

116  
2ci



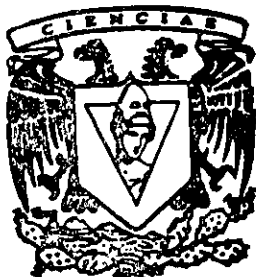
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**EL PROYECTO GENOMA HUMANO:  
una aproximación histórica**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**B I O L O G O**  
P R E S E N T A N:  
(2) LUCIA RAMIREZ ESCOBAR  
(1) RICARDO NOGUERA SOLANO

DIRECTOR DE TESIS DRA. ROSAURA RUIZ GUTIERREZ



**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

1998

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
FACULTAD DE CIENCIAS  
SECCION ESCOLAR

259613



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule  
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Ciencias  
P r e s e n t e

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

El Proyecto Genoma Humano. Una aproximación histórica.

realizado por Noguera Solano Ricardo y Ramírez Escobar Lucía

con número de cuenta 8652090-2 , pasante de la carrera de Biología  
8116633-6

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis  
Propietario

Dra. Rosaura Ruíz Gutiérrez *Rosaura*

Propietario

M. en C. Nancy Miravete Novelo *Nancy*

Propietario

Dr. Carlos López Beltrán *Carlos*

Suplente

Dra. Luisa Alba Lois *Luisa*

Suplente

Dra. Alicia González Manjarrez *Alicia*

Consejo Departamental de Biología

*Alejandro*  
M. en C. Alejandro Martínez Mena

## TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCION.....	1
<b>CAPITULO I.....</b>	<b>4</b>
INGENIERIA GENETICA .....	4
NATURALEZA Y ORGANIZACION DEL DNA .....	8
DNA .....	8
CROMOSOMAS.....	10
GENES.....	12
<b>CAPITULO II.....</b>	<b>13</b>
ORIGEN DEL PROYECTO GENOMA HUMANO .....	13
OBJETIVOS Y AGENDA DEL PROYECTO .....	17
AGENDA Y PROGRAMA DEL PROYECTO GENOMA HUMANO .....	17
PAISES DESARROLLADOS .....	19
HUGO.....	26
UNESCO.....	27
PAISES EN VIAS DE DESARROLLO .....	29
LATINOAMERICA.....	29
EL PROYECTO GENOMA HUMANO (MEXICO).....	30
<b>CAPITULO III .....</b>	<b>33</b>
EL PROYECTO.....	33
OBJETIVOS.....	34
ESTRATEGIAS DE INVESTIGACION .....	35
COMERCIALIZACION .....	36
PRESUPUESTO.....	37
PATENTES .....	38
MANEJO DE LA INFORMACION .....	41
ELSI (CUESTIONES ETICAS, LEGALES Y SOCIALES).....	41
EMPRESAS ASEGURADORAS Y EMPLEO.....	43
CONSIDERACIONES LEGALES .....	44

PRACTICA MEDICA .....	45
USO MEDICO .....	46
LAS ENFERMEDADES GENETICAS .....	46
LIMITACION EN LA APLICACION DEL CONOCIMIENTO.....	47
LOS COSTOS DE LA NUEVA MEDICINA Y LA DISTRIBUCION.....	48
TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES GENETICAS (ALTERNATIVAS DE CURA).....	50
ASESORIA PSICOLOGICA .....	52
<b>CAPITULO IV.....</b>	<b>53</b>
INFLUENCIA DEL PGH EN LA SOCIEDAD.....	53
EXTRAPOLACION DEL CONOCIMIENTO BIOLOGICO, CONTROL SOCIAL, EUGENESIA Y RACISMO .....	53
LOS LIMITES DE LA MANIPULACION GENETICA Y LA TERAPIA GENICA.....	55
PREOCUPACION EDUCATIVA.....	58
<b>CAPITULO V.....</b>	<b>60</b>
INFLUENCIA DEL PGH EN LA CIENCIA .....	60
EMPRESA CIENTIFICA.....	60
ANALISIS E INTERPRETACION DEL GENOMA.....	63
POLIMORFISMO HUMANO .....	66
ESTUDIOS DE BIOLOGIA COMPARADA .....	68
ORGANISMOS MODELO .....	70
INFORMATICA .....	73
ENTRENAMIENTO DE INVESTIGADORES .....	75
<b>CAPITULO VI.....</b>	<b>76</b>
VENTAJAS DEL PROYECTO EN LA PRACTICA MEDICA .....	76
CONCLUSIONES.....	79
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>83</b>
<b>APENDICE A.....</b>	<b>87</b>

*... no son las ideas de la ciencia las  
que engendran pasiones. Son las  
pasiones las que utilizan a la  
ciencia para respaldar su causa.*

*François Jacob*

## INTRODUCCIÓN

Dice Françoise Jacob<sup>1</sup>, que quizás el adelanto tecnológico no es fundamental para la comprensión de un problema, sino una forma diferente de abordar y tratar el asunto. Señala Jacob que esta condición se convierte en posible cuando el objeto en cuestión se hace accesible al análisis, el objeto ya delimitado se le interroga y se le aborda desde diferentes puntos.

El propósito general de este trabajo es mostrar como el objeto "Genoma" humano se ha convertido en un objeto accesible. A pesar, de la limitación tecnológica para conocerlo. Para abordarlo e interrogarlo se ha propuesto un proyecto único en la historia de la biología, que ha llegado a tomar dimensiones internacionales y tiene como objetivos centrales mapear y secuenciar la totalidad del genoma humano.

El concepto genoma<sup>2</sup> propuesto en 1931, entendiéndose en un sentido amplio como el material genético de un organismo, en este caso del ser humano, se ha convertido en una piedra filosofal de las investigaciones de punta de la biología molecular.

Desde luego el genoma humano no es un concepto que resulte fácil de definir, sobre todo si pensamos que es una entidad dinámica. Por otro lado, el proyecto que a continuación exponemos, el Proyecto Genoma Humano, sólo dará como resultado una comprensión estructural, que esta apenas al principio de la comprensión funcional y que al terminar el mapeo y la secuenciación, las investigaciones entrarán en un segundo nivel. Para esto serán fundamentales las investigaciones con genomas de organismos modelos.

Para abordar el genoma se han propuesto diferentes técnicas y estrategias, acordando una cooperación internacional. Desde luego existiendo una asimetría notable, tanto en el uso, como en la capacidad de mapear y secuenciar entre los países desarrollados y los países en vías de desarrollo.

El proyecto Genoma Humano, en realidad más que un proyecto formal representa una "fiebre de oro", en la que cada país intenta conseguir los mapas y secuencias de genes que han considerado como primordiales ; ya sea, desde un punto de vista médico o por las ganancias económicas que pueden redituarse. Esta situación plantea serios problemas como el problema de patentes de genes que deben discutirse ampliamente. A continuación presentamos el plan de trabajo.

---

<sup>1</sup> Jacob, F., "La lógica de lo viviente". (1986). Salvat Editores, S. A.

<sup>2</sup> <http://www.u-w.com/>

En el capítulo I damos una breve introducción sobre los avances de la ingeniería genética y una breve información sobre la naturaleza de la molécula del DNA sobre la cual giran las investigaciones del Proyecto Genoma Humano.

En el capítulo II tratamos el nacimiento del proyecto, exponiendo las condiciones en la que surgió la idea, destacando las causas que llevaron a la generación del Proyecto Genoma Humano, y las polémicas que se dieron en torno a su creación. En dicha sección, intentaremos no limitarnos a enumerar datos en la línea del tiempo y en las relaciones espaciales, sino que pondremos en relieve la continua influencia de otras actividades humanas en el desarrollo de la ciencia. Por otro lado, abordamos su organización y mostramos por qué ha alcanzado la dimensión de un proyecto internacional. Hacemos un planteamiento general de los objetivos que pretende y de su agenda para lograrlo. Señalamos la integración de países desarrollados y la participación fundamental de organizaciones internacionales como HUGO<sup>1</sup> y la UNESCO, en un intento por integrar a países en vías de desarrollo a las investigaciones del genoma humano.

En el capítulo III analizamos y discutimos, la naturaleza del proyecto, sus objetivos y las estrategias utilizadas por los diferentes países. Asimismo, centramos las discusiones sobre las limitaciones de la información genética y el manejo de este tipo de información en áreas como: empresas, seguros, práctica médica, etc. El uso de la información genética ha dado origen a la necesidad de discutir sus implicaciones éticas, legales y sociales mismas que ante la aplicación de la información obtenida en el PGH requieren ser reglamentadas. En este sentido se discuten los efectos potenciales que tendrá en la práctica médica, principalmente en la diagnosis y el tratamiento de enfermedades. Resaltamos lo delicado que es y la gran responsabilidad que se requiere para manejar adecuadamente este tipo de información, sobre todo cuando se sabe que la elaboración de un mapa genético o el establecimiento de una secuencia son solamente un promedio estadístico, y no un total y confiable conjunto de datos.

En el capítulo IV analizamos el uso de esta información cuando se lleva al terreno social, ligada generalmente a tendencias discriminatorias y racistas, situaciones que surgen ante la carencia generalmente de conocimiento o ante ciertas posiciones políticas. Planteamos los límites de la manipulación genética; un problema que no es tan inmediato, pero que necesitará analizarse y discutirse ante los adelantos de la nueva tecnología de la manipulación genética. Señalamos la preocupación educativa, que consideramos es fundamental en la aplicación del conocimiento sobre el genoma humano. En este capítulo, pondremos un interés especial en apuntar la continua influencia entre los datos aportados por la ciencia y como esta información va más allá del mundo científico. En este sentido se percibe que el proyecto genoma humano influirá en muchos campos tanto del pensamiento, como de la política, de la economía, del arte, de la literatura y naturalmente de la medicina y la biología.

En el capítulo V, partimos del análisis del Proyecto Genoma Humano como una empresa científica, tanto en sus objetivos como en la ideología de su investigación; destacando la importancia del conocimiento del genoma humano en la comprensión de la naturaleza y evolución del ser humano; abordamos el tema del polimorfismo humano, el cual representa un problema serio en la estandarización de mapas y secuencias y la forma

---

<sup>1</sup> Human Genome Organization.

como se pretende resolverlo. Planteamos que el desarrollo de las investigaciones creará una infraestructura en cuanto a las herramientas de análisis, y los avances tecnológicos abocados a la investigación médica y biológica, principalmente a través del empleo de organismos modelo.

En el capítulo VI, dividido en dos secciones, en la primera presentamos las ventajas del proyecto; y en la segunda las conclusiones de nuestro trabajo, no es un fin en sí mismo, sino que se constituye en un elemento de reflexión, frente a conocimientos que conformaran todo un esquema de práctica médica y de infraestructura para nuevas investigaciones de fenómenos biológicos.

Finalmente, en el apéndice A describimos brevemente las técnicas y estrategias de la ingeniería genética utilizadas en el Proyecto Genoma Humano, para cumplir los objetivos de mapear alrededor de 100 mil genes, y secuenciar 3000 millones de pares de bases. Aclaramos también los conceptos de mapeo y secuenciación, los cuales representan una herramienta fundamental en estas investigaciones.



# CAPITULO I

## Ingeniería genética

Después de la década de los cincuenta, la biología molecular se ha desarrollado en una forma impresionante en cuanto a los conceptos y técnicas de estudio. Han surgido nuevos avances principalmente en el área de la ingeniería genética, disciplina que inicio en la década de los setenta. Por la limitación del trabajo; y en forma arbitraria, mencionaremos sólo algunos eventos importantes que conceptual y técnicamente llevaron a plantear el Proyecto Genoma Humano como una tarea posible.

La molécula del DNA fue aislada por primera vez en 1889 por Miescher, mientras que en 1900 se redescubrieron las leyes de Mendel. Sin embargo, entonces no se atribuyó ninguna relación entre la molécula del DNA y la herencia. Más tarde, en 1910, se demostró que un gen en particular tiene un locus que puede ser asignado a un cromosoma particular y quedaba claro que los genes contenían la información de la herencia; pero aun no se encontraba alguna relación entre el DNA y el fenómeno de la herencia.

Fue hasta 1944, que Avery demostró que es el DNA y no la proteína, el que contiene la información hereditaria; nueve años más tarde (1953) Watson y Crick propusieron el modelo de la doble hélice basados entre otros hechos en los resultados radiográficos de Franklin y Wilkins.

Los nuevos conocimientos adquiridos abrían un marco teórico en cuanto a la naturaleza de muchas enfermedades. A principios de los sesenta la genética moderna estaba constituida como una ciencia, lo mismo que la biología molecular, de esta forma el estudio de las enfermedades humanas presentaba dos nuevos enfoques metodológicos de investigación. Por un lado, en la biología molecular el estudio de las mutaciones que provocaban alteraciones en las secuencias de genes que causan enfermedades y por el otro, en el campo de la genética, el enfoque estadístico en la búsqueda de patrones para la predicción de enfermedades hereditarias, basado principalmente en la elaboración de mapas de defectos. Con estos enfoques se daban nuevas redefiniciones del gen y de la naturaleza de los mapas de genes, así como de las secuencias de genes. En estos años quedó claro, sin ninguna duda que el DNA era la molécula hereditaria, que se encontraba en todos los organismos, fundamentalmente de la misma naturaleza (constituido, por cuatro tipos de moléculas; cuatro bases nitrogenadas, adenina, timina, guanina y citocina). Por otro lado se comprendió que el DNA, controlaba el desarrollo, funcionamiento y estructura celular, motivos por los cuales alrededor de esta molécula se dieron una serie de descubrimientos fundamentales en su comprensión.

En 1961 Marmur y Doty descubrieron la renaturalización del DNA, y abrieron la posibilidad de realizar hibridación entre diferentes tipos de ácidos nucleicos, incluyendo hibridación entre DNA de diferentes especies.

Un descubrimiento fundamental entre otros, en los métodos del DNA recombinante, fue la existencia de enzimas que actúan directamente sobre los ácidos nucleicos. A las primeras de estas clase de enzimas se les llama polimerasas (DNA polimerasa), y se encuentran en grandes cantidades dentro de las células de todos los organismos. Las DNA polimerasas copian los ácidos nucleicos, adicionando los nucleótidos para formar una nueva hebra complementaria, y en ocasiones participan en la reparación de una hebra de DNA.

Estas polimerasas se encuentran muy activas cuando la doble hélice del DNA se replica, o cuando el DNA se transcribe a RNA<sup>1</sup> mensajero (RNA polimerasa).

Hay otras polimerasas que transcriben en dirección opuesta, haciendo una copia de DNA a partir de un RNA mensajero, a esta enzima se le llama transcriptasa reversa.

En muchos laboratorios, en una serie de pequeños descubrimientos se fueron dando avances fundamentales, hasta que finalmente se encontró un tipo de enzimas especiales con las que se podía romper la hebra de DNA. En 1962, Arber proporcionó la primera prueba de la existencia de las enzimas que cortan el DNA, a estas enzimas, se les llamó enzimas de restricción del DNA (las cuales reconocen siempre regiones específicas de éste). Esto condujo a su posterior purificación y utilización en la caracterización de la secuencia del DNA por parte de Nathans y H. Smith. Aproximadamente 100 de estas enzimas se han encontrado en bacterias y cada una reconoce y corta en diferentes sitios a la molécula (Haq, 1993).

En 1967 Gellert descubrió otra enzima, la DNA ligasa, esta enzima une los fragmentos de DNA. Exitosamente ya se tenían dos tipos de moléculas con las que se podía cortar y pegar el DNA. Estos descubrimientos proporcionaban las herramientas necesarias para manipular la hebra de DNA.

Entre 1972-1973, con las nuevas herramientas de manipulación del DNA se desarrollaron las técnicas de clonación de la molécula. Principalmente en el laboratorio de Boyer, Cohen, Berg y colaboradores de la Universidad de Stanford y de la Universidad de California en San Francisco. Se empezaron a usar bacterias, para insertar los segmentos de DNA de eucariontes en pequeños anillos extras de DNA de pocos genes, llamados plásmidos. Estas bacterias pueden intercambiar plásmidos entre ellas, de igual forma pueden cambiar o traspasar parte de su cromosoma. También se aprendió a introducir pedazos cortos de DNA, (de un gen o dos), de esta forma la bacteria podía multiplicarse normalmente a pesar del DNA extraño; con pocas copias de un segmento de material genético de un organismo "superior", se podía aumentar el número de esos genes en cantidades considerables. Los biólogos moleculares tomaron el término clon de los botánicos, que significa la multiplicación idéntica de descendencia de una sola célula, para describir, cómo, un cultivo de bacterias aumenta y multiplica la cantidad de genes transplantados. Esta técnica proporcionó la capacidad de aumentar la cantidad de DNA necesaria para su manipulación. A finales de los setenta se tenía ya un conjunto de técnicas que recibió el nombre de DNA recombinante, y que más tarde los periodistas llamaron ingeniería genética (Freeland, 1993; p. 63).

Mientras se avanzaba en el estudio del DNA se presentó un nuevo problema, la secuenciación del DNA. Entre 1975 a 1977 Sanger, Barell, Maxam y Gilbert desarrollaron métodos de secuenciación rápida del DNA.

Después de resolver las secuencias de los aminoácidos de la molécula de insulina, Sanger intentó resolver la secuenciación de los ácidos nucleicos (1975). Sanger escogió el DNA de un bacteriófago llamado  $\phi$  (phi-X 174), porque es uno de los más pequeños, con pocos genes y un DNA que no es una doble hélice, sino una sola hebra circular. Actualmente sabemos que esta hebra tiene 5,375 nucleótidos.

---

<sup>1</sup> por sus siglas en inglés.

Dos años más tarde, Sanger hizo una simplificación a su método, considerando que los nucleótidos normales tienen un punto de crecimiento, un sitio en la molécula de DNA donde la polimerasa se une a la próxima cadena. Creando nucleótidos artificiales consiguió que los puntos de crecimiento se bloquearan. A estos nucleótidos los llamo dideoxidos. De esta manera, cuando la polimerasa se pega a dichos nucleótidos para aumentar la cadena, el crecimiento de esta cadena cesa.

En los ochenta, Marvin Carruthers de la Universidad de Colorado, desarrolló un método que comienza, con una sola base conocida, a esta se agregan nuevas bases en forma química, una por una, cuantas veces se quiera. Con esta técnica se construyen fragmentos de DNA de una secuencia predeterminada entre cinco y setenta y cinco bases de largo. Carruthers y Leroy Hood, quienes estaban en el Instituto de Tecnología de California, inventaron instrumentos que hacen estos fragmentos en forma automática (Freeland, 1993: p. 73).

Durante el mismo período, Walter Gilbert y Allan M. Maxam, en Harvard, desarrollaron un método de secuenciación del DNA usando otros compuestos químicos en lugar de enzimas, pero con mayor simplicidad y direccionalismo. A partir de entonces los dos métodos, uno conocido como método químico y el otro como método enzimático se han estandarizado y se han vuelto más rápidos y en gran parte automatizados.

En 1979 Salomon y Bodmer y en 1980 Botstien *et al*, introdujeron un nuevo concepto en la terminología del DNA; los fragmentos de restricción de longitud polimórfica "RFLPs"<sup>1</sup>. Este concepto está basado en la variación del DNA, el cual es un poco diferente de un individuo a otro, de 1 a 500 nucleótidos aproximadamente, mostrando diferencias entre dos individuos cuando el DNA es cortado con la misma enzima de restricción. Posteriormente fue muy fácil trabajar con estos fragmentos gracias, a la introducción de la electroforesis de campo pulsado (pulsed-field electrophoresis) por Schwart y Cantor. Con esta técnica se pueden separar fragmentos de DNA de cientos de pares de bases de longitud (Engel, 1993).

En 1980 tuvo lugar otro avance técnico, basado en la hibridación del DNA. Esta nueva técnica se llama hibridación *in situ* (*in situ* hybridization) del material genético; la cual se explica con mayores detalles en el apéndice A. En este mismo año, Mary Harper agregó otro ingrediente a la técnica de hibridación *in situ*, agregando Dextran, un carbohidrato, que cuando se pone con la sonda<sup>2</sup>, forma una aglomeración, que hace que las moléculas de la sonda se agrupen; y como resultado, el sitio de hibridación<sup>3</sup>, tiene suficiente radioactividad para mostrarse claramente. De esta manera, en 1981, Harper y dos colegas mapearon el gen de la insulina. Prepararon una autorradiografía que mostraba una mancha negra de la radioactividad en la punta del brazo corto del cromosoma 11. Más tarde, el mapeado por hibridación *in situ* se convirtió en un método estándar.

En 1987, Maynard Olson, de la Universidad de Washington en San Louis, y otros colegas introdujeron un nuevo método. Consistía en introducir el DNA de otras fuentes al cromosoma de levadura, creando un cromosoma artificial que podía ser reintroducido

---

<sup>1</sup> fragmentos de DNA que resultan al cortar la molécula de DNA con enzimas de restricción y que se separan por electroforesis.

<sup>2</sup> fragmento de DNA clonado y aislado que se utiliza para identificar y mapear genes y para localizar secuencias de DNA separados en geles de electroforesis, bajo el principio de hibridación.

<sup>3</sup> lugar donde las hebras de dos especies diferentes tienen secuencias de bases similares.

dentro de una célula de levadura. Las levaduras son eucariontes que tienen 17 cromosomas, más o menos, dependiendo de la especie. Son organismos unicelulares y son más simples que muchos de los demás eucariontes. Estos organismos se dividen cada dos horas. Olson llamó a su invento "yeast artificial chromosome" (cromosomas artificiales de levadura) usualmente se abrevia como YACs. En el desarrollo de los cromosomas artificiales de levadura (YACs) por Burke *et al.* se logró introducir un vector de clonación, y proporcionó a los biólogos una técnica para clonar largas piezas de DNA, de 100 a 10000 veces más grandes que los fragmentos que pueden ser clonados en bacterias (Engel, 1993). El método de YACs es análogo al uso de plásmido bacteriano para multiplicar segmentos selectos de DNA en bacteria. Pero el segmento genético que se inserta en el plásmido bacteriano es de un orden de menos de 10 kilobases<sup>1</sup> de largo, los cromosomas de levadura tienen de 300 a 400 kilobases de largo. La maquinaria celular puede manejar cromosomas artificiales de más de 100 kilobases o más de 10 veces esto.

Finalmente, al mismo tiempo Salk *et al* y Kary Mullis y colaboradores, en Cetus Corporation en Berkeley, California, inventaron un método, llamado "Polymerase Chain Reaction" o PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) que se usa para amplificar las secuencias de DNA *in vitro*, sin la necesidad de poner la secuencia dentro de una célula, haciendo a esta técnica fácil, rápida y precisa en la amplificación de regiones pequeñas de DNA (Engel, 1993).

A mediados de los ochenta, los biólogos moleculares, habían desarrollado las herramientas esenciales para la manipulación del DNA. Sin embargo, la idea de mapear y secuenciar todo el genoma humano no aparecía como algo posible, a pesar de que estos avances habían abierto la posibilidad de crear un proyecto como el Proyecto Genoma Humano.

En 1985, en el campo de la genética humana varios grupos propusieron usar marcadores de DNA interespaciados a través del genoma humano para localizar genes estudiados en pedigrís humanos, actividad que ha sido toda una tradición. Pequeños grupos a través del mundo trabajaban para encontrar marcadores por medio del análisis de ligamiento. Dos grupos, uno el de Ray White en el Howard Hughes Medical Institute de la Universidad de Utah iniciaron un programa para mapear genes a gran escala; y el otro grupo, el de Donis Keller en Boston publicaron un mapa de ligamiento en 1987.

Podemos resumir que, los métodos para clonar grandes fragmentos de DNA desarrollados en los ochenta, el descubrimiento del DNA recombinante a mediados de los setenta, la clonación basada en la construcción de cromosomas artificiales de levaduras (YACs), la electroforesis para separar fragmentos grandes de DNA y el descubrimiento de la reacción en cadena de la polimerasa, abrieron las puertas para mapear y secuenciar con extraordinaria velocidad y precisión; estableciendo las bases técnicas para la creación del Proyecto Genoma Humano (Watson y Cook-Deegan, 1991).

---

<sup>1</sup> Un Kilobase equivale a mil pares de bases.

## Naturaleza y organización del DNA

El Proyecto Genoma Humano y otras investigaciones están relacionados para avanzar en el entendimiento y comprensión de las enfermedades genéticas, de la biología humana y del estudio del comportamiento de los genes. Para tener un panorama mejor de la molécula con la que se trabaja en el Proyecto Genoma Humano daremos algunos datos de la estructura y función de la molécula de DNA y de la anatomía general del genoma humano.

### DNA

El juego completo de instrucciones para hacer un organismo es llamado genoma, el cual contiene el plan maestro para todas las estructuras celulares y su actividad durante todo el tiempo de vida de todas las células de un organismo. El genoma humano consiste de un hilo espiroidal de DNA (Acido desoxirribonucleico), el cual está asociado con moléculas proteicas, organizado dentro de estructuras llamadas cromosomas (Ver figura a). Para cada organismo, los componentes de estos delgados hilos llevan en código toda la información necesaria para construir y mantener la vida, desde una bacteria hasta un ser humano

La elucidación de la estructura del DNA por James Watson y Francis Crick en 1953 causó un impacto en todas las áreas de la biología y en particular, en la genética por dos razones básicas: La primera, sugería que la estructura de la molécula de DNA podía duplicarse o replicarse. La segunda, sugería que tal vez la secuencia de pares de nucleótidos en el DNA dictaban la secuencia de aminoácidos en la organización de la proteína por el gen. Esto hizo pensar en la existencia de un código genético o un tipo de lenguaje que la secuencia de pares de nucleótidos presentaba.

Dos trabajos importantes ayudaron a Watson y Crick a explicar como es la estructura de la molécula de DNA. La primera contribución fue hecha por Rosalind Franklin y Maurice Wilkins en 1952. En sus experimentos usaron la difracción de los rayos X para obtener información acerca de la estructura del DNA. La segunda contribución fue hecha en 1950 por Erwin Chargaff quien había trabajado por varios años estudiando una gran selección de DNAs de diferentes organismos. De esta manera pudo establecer empíricamente algunas reglas acerca de la cantidad de cada componente de DNA. Estableció que del total de nucleótidos de bases pirimídicas (T+C) hay siempre una cantidad igual de nucleótidos de bases purínicas (A+G). Además, que de la cantidad de T es siempre igual a la cantidad de A y que la cantidad de C es siempre igual a la cantidad de G. Pero que la cantidad de A+T no es necesariamente igual a la cantidad de G+C. Estas proporciones variaban entre diferentes organismos. Estas dos pistas ayudaron a descifrar la enigmática estructura que cambiaría la visión de la biología.

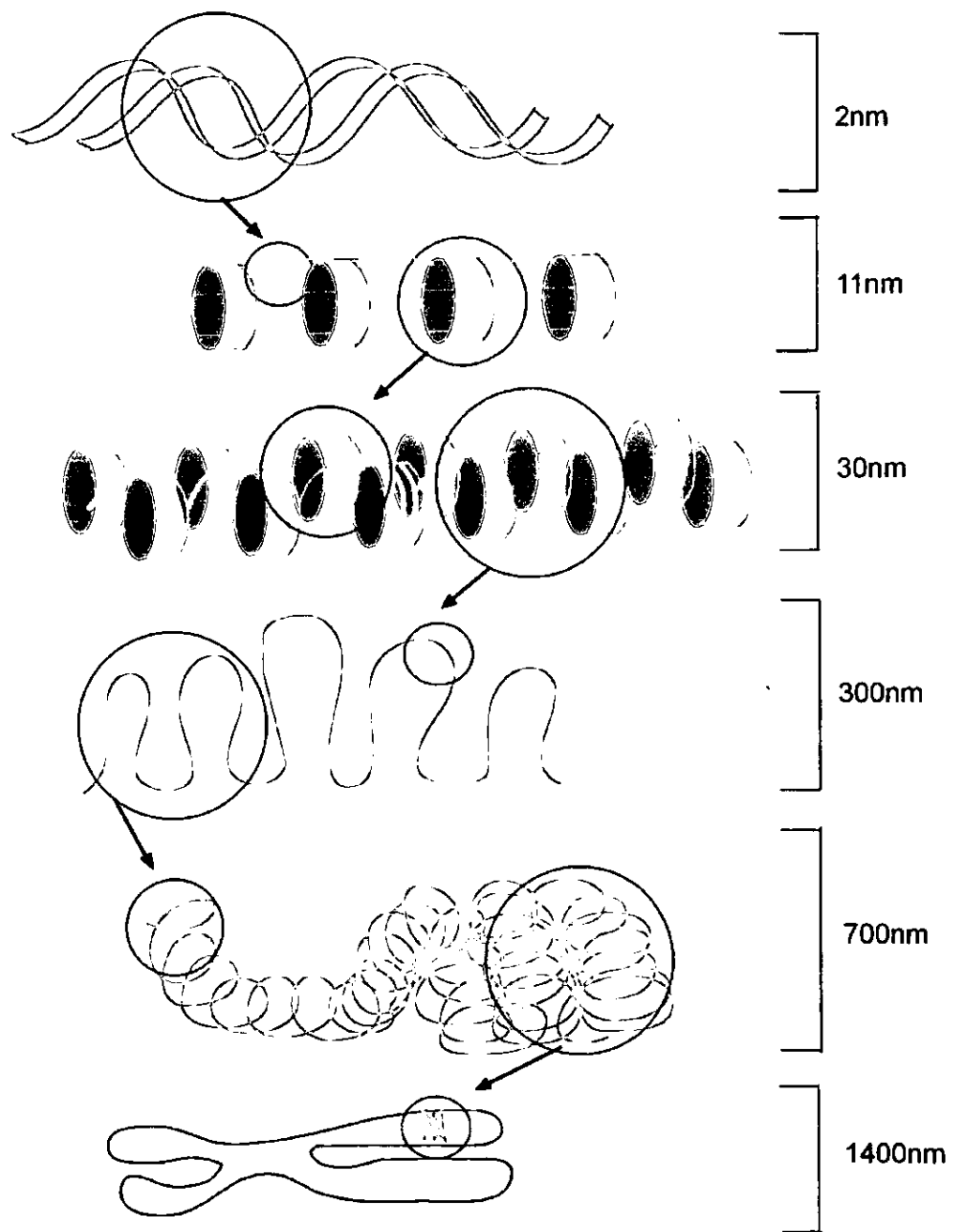


Figura a La figura ilustra los diferentes niveles de organización y empaquetamiento de la molécula de DNA. Tomada de Freeland, 1995, p. 15.

Cuando Watson y Crick analizaron toda la información obtenida de la molécula del DNA decidieron que únicamente una estructura helicoidal doble cubría con todas las características y medidas resultado de la difracción de rayos X y de la densidad del DNA. De este brillante análisis de datos pudieron llegar a siete importantes conclusiones acerca de la doble hélice de DNA que son:

- 1) La doble hélice esta compuesta por dos polinucleótidos.
- 2) Las bases nitrogenadas (Ver figura b) están empalmadas adentro de la hélice, mientras que la columna vertebral de la molécula del DNA está formada de un azúcar (desoxirribosa) y un fosfato.
- 3) Las bases de los dos polinucleótidos interactúan por medio de puentes de hidrógeno, formando pares de bases (pb), que confieren la única fuerza de atracción que mantiene la estructura junta. El tamaño del genoma está establecido como el número total de pares de bases, el genoma humano contiene alrededor de 3000 millones de pares de bases. Estas bases siguen la regla de una base purínica y una base pirimidínica, es decir, la combinación Adenina y Timina formara dos enlaces de hidrógeno y la combinación Guanina y Citosina formaran tres enlaces de hidrógeno. El orden particular de las bases a lo largo del esqueleto de azúcar-fosfato es llamado secuencia de DNA, que determina la instrucción genética exacta requerida para crear un organismo particular.
- 4) La doble hélice ejecuta una torsión o vuelta cada diez pares de bases. El diámetro de la hélice es de 20 Angstroms<sup>1</sup>. Una torsión de la hélice es de 34 Angstroms, mientras que el espacio entre bases adyacentes es de 3.4 Angstroms. La doble hélice de DNA es empaquetada en una estructura llamada nucleosoma (Ver figura c). En 1974 estudios de difracción de neutrones mostraron que el nucleosoma en solución acuosa es un disco plano de un diámetro de 100 Angstrom y un grosor de 55 a 60 Angstroms con 1.7 vueltas de DNA enredado en la parte exterior del centro del octámero con una torsión de 30 Angstroms. El nucleosoma esta formado de proteínas de empaquetamiento llamadas histonas. Las histonas forman una estructura en forma de barril llamada octámero con dos unidades de cada histona H2A, H2B, H3 y H4 (Griffiths, J. F. A *et al*, 1993, p. 470-474). En 1975, Robert Kornberg demostró que el nucleosoma esta hecho de cantidades iguales de histonas excepto de la histona H1 (Brown, T.A, 1993, p. 268-271a). La histona H1 es una molécula elongada que contiene dos brazos que se extienden en ambas direcciones a lo largo del DNA uniendo cada nucleosoma (Ver figura d) (Sedivy M. *et al*, 1992, p.1-8), y se cree que tiene una función estabilizadora (Griffiths, J. F. A *et al*, 1993) o que pudiera servir como modulador en las interacciones de alto rango asociadas con cambios reversibles en la estructura de los cromosomas durante el ciclo celular (Los Alamos Science, 1992, p.172).
- 5) Las dos cadenas de polinucleótidos (hebras) de la doble hélice son antiparalelas, es decir, que una hebra corre en dirección 5' a 3' y la otra en dirección 3' a 5'.
- 6) La doble hélice tiene dos diferentes acanaladuras una mayor y una menor confiriendo una estructura regular. Esta característica es importante en la interacción de la hélice con las proteínas involucradas en la replicación del DNA y en la expresión de la información genética. También se ha encontrado que las histonas entran en contacto con la

---

<sup>1</sup> Un Angstrom es igual a  $10^{-10}$  metros.

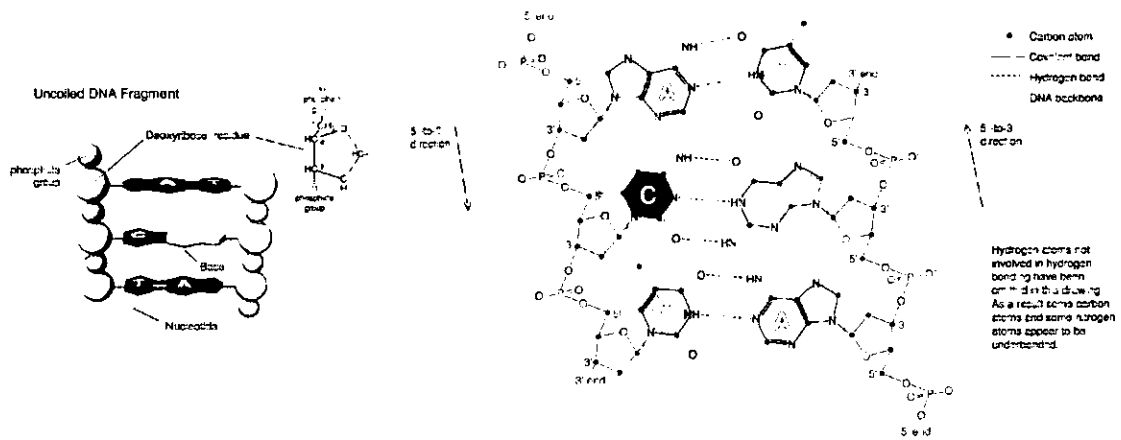


Figura b Estructura bioquímica de una molécula de DNA. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 40-41.



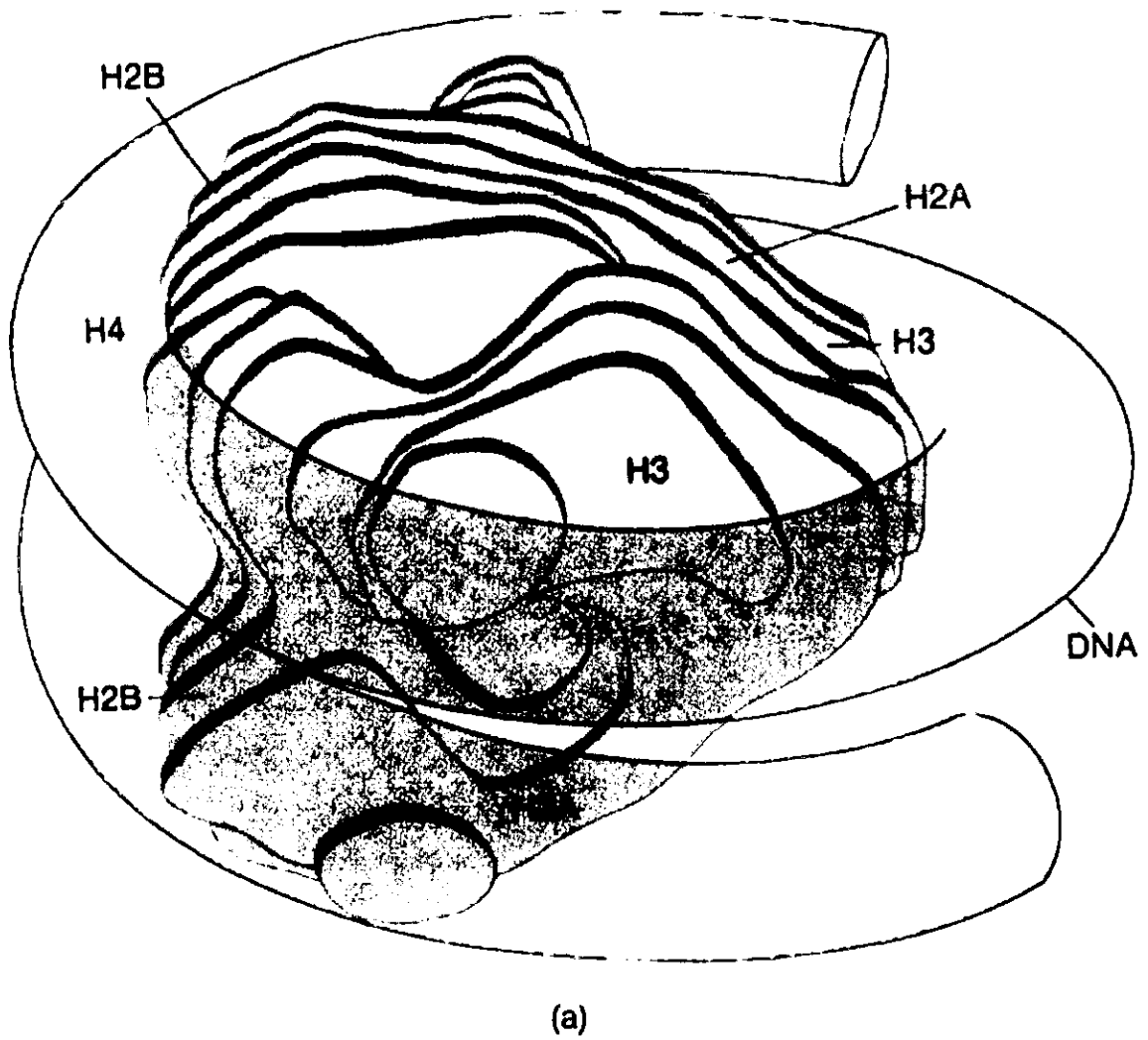


Figura c La figura ilustra el modelo de un nucleosoma. El DNA ejecuta dos vueltas alrededor del octámero conformado por las histonas H2A, H2B, H3 y H4. Tomada de Griffiths, *et al*, 1993, p. 471.

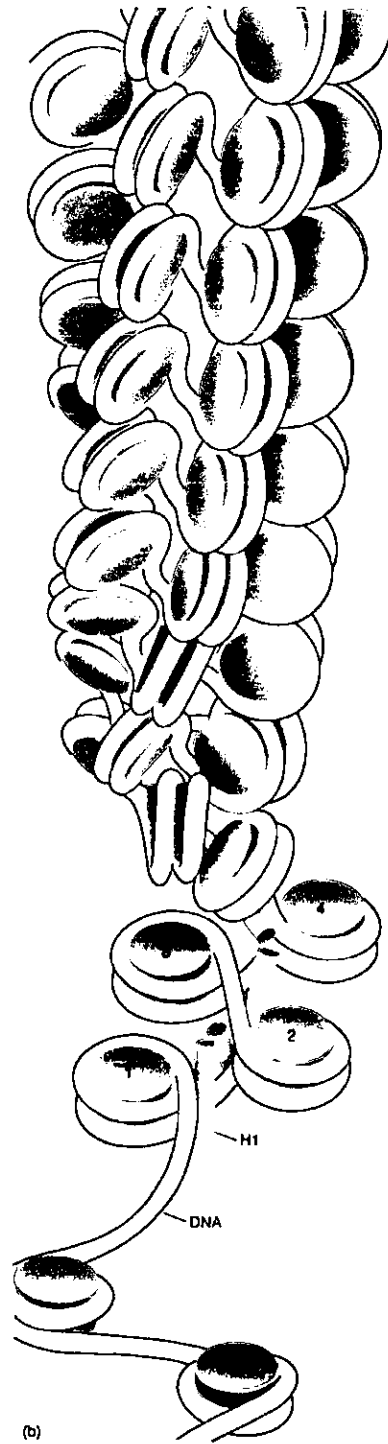


Figura <sup>d</sup> La figura ilustra el modelo de un solenoide de 30nm de tamaño. Los octámeros de las histonas aparecen en forma de disco. La histona H1 se muestra corriendo hacia abajo en el centro de la estructura, posiblemente actuando como un estabilizador. Tomado de Griffiths, et al, 1993, p. 471.

enervadura menor del DNA y la enervadura mayor esta reservada para la interacción con otras proteínas que regulan la expresión de los genes y otras funciones del DNA (Los Alamos Science, 1992, p. 170).

- 7) **Diferencias entre las formas A y B.** Cuando Watson y Crick descubrieron la estructura de la molécula del DNA, ya se habían descubierto por los trabajos de Rosalind Franklin que existían dos formas cristalinas de esta: la forma A y la forma B. Elucidaron estas dos formas de la cantidad de agua presente en la solución de DNA durante la formación de los cristales. Las diferencias entre ellas son menores, por ejemplo: la forma A está más compactada que la forma B con 11 pares de bases por vuelta o torsión y con un diámetro de 23 Angstrom. Otras formas de DNA se han encontrado desde 1953 entre ellas están la forma C, D, E y Z, cada una con pequeñas diferencias de conformación de la doble hélice de DNA forma B usada como modelo por Watson y Crick. La conformación más singular la tiene el DNA forma Z cuyo giro es hacia la izquierda, mientras que el resto tiene el giro hacia la derecha.

Cada vez que una célula se divide en dos células hijas su genoma completo se duplica. Esta duplicación ocurre en el núcleo (Ver figura e). Durante la división celular, la molécula de DNA se desenrolla y las uniones entre los pares de bases se rompen, en seguida las hebras se separan, y cada hebra dirige la síntesis de una hebra nueva complementaria. De esta forma cada célula hija recibe una hebra paterna y una nueva hebra nueva de DNA; el seguimiento de la regla de una base purínica A se une a una base pirimidínica T y una base pirimidínica C a una base purínica G. Esto asegura que la nueva hebra sea una copia exacta de la hebra vieja, esto minimiza la incidencia de errores (mutaciones) que pueden afectar los organismos resultantes o a su descendencia.

## Cromosomas

Durante los veinte los estudios microscópicos acerca de los cromosomas revelaban que durante la meiosis los cromosomas homólogos se alineaban lado a lado. Mas adelante con los avances en la microscopia electrónica y las disecciones morfológicas de los cromosomas se pudo estudiar con más detenimiento la arquitectura de los cromosomas. El genoma humano diploide contiene alrededor de  $6 \times 10^9$  pares de bases o 204 centímetros de moléculas de DNA empaquetadas en 46 cromosomas humanos ( Los Alamos Science, 1992, p. 168), en donde cada juego de 22 cromosomas autosomas y un cromosoma sexual X o Y es proporcionado por cada padre. Durante la meiosis o mitosis el tamaño en promedio de los cromosomas en mamíferos es de 3 a 5  $\mu\text{m}$ <sup>1</sup> de largo y contienen aproximadamente 150 millones de pares de bases de DNA (Sedivy M. *et al*, 1992, p.1-8).

En las células la estructura de cada cromosoma se encuentra altamente ordenado y compactado por la interacción con proteínas complejas de empaquetamiento. Al resultado de la estructura DNA-proteína se le llama cromatina (Ver figura f). La cromatina es una fibra que tiene un diámetro de 300 Angströms. El DNA se encuentra siempre en forma de

---

<sup>1</sup> Un micrómetro es igual a  $10^{-6}$ m.

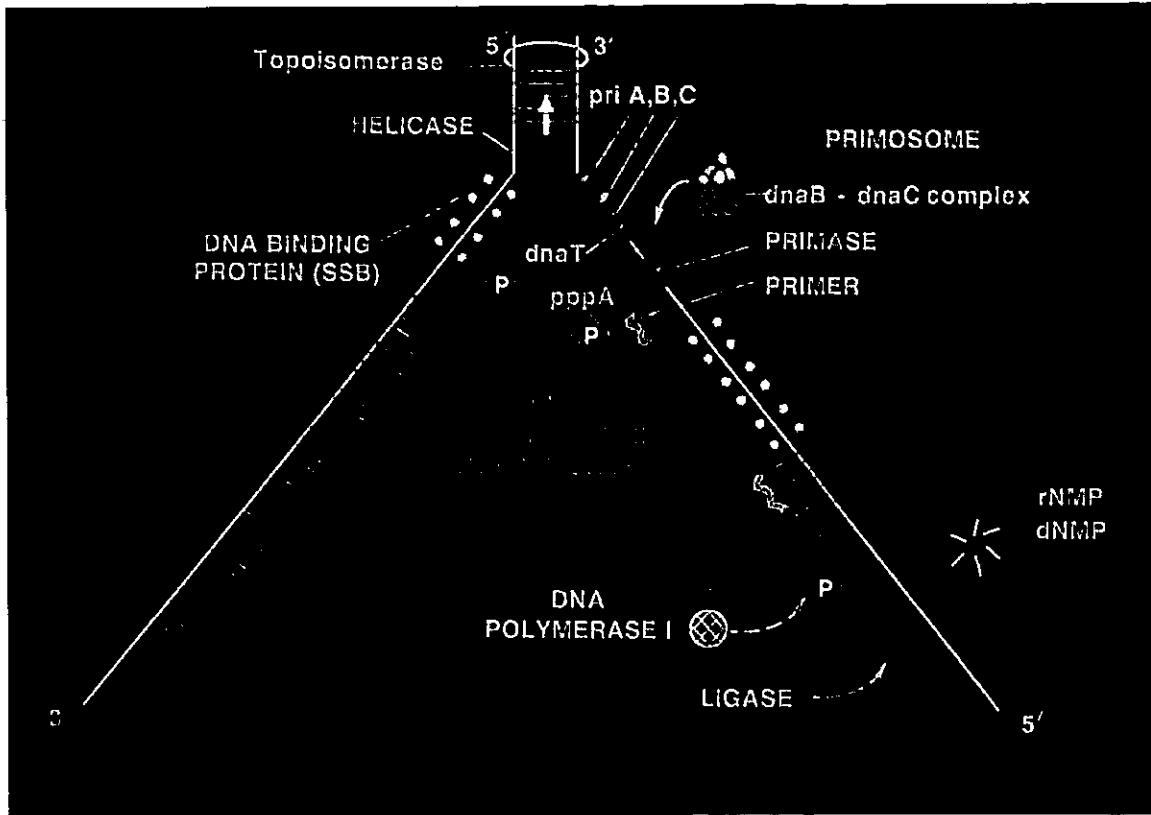


Figura e La figura ilustra el mecanismo de replicación del DNA. Tomado de Griffiths, et al, 1993, p. 320.

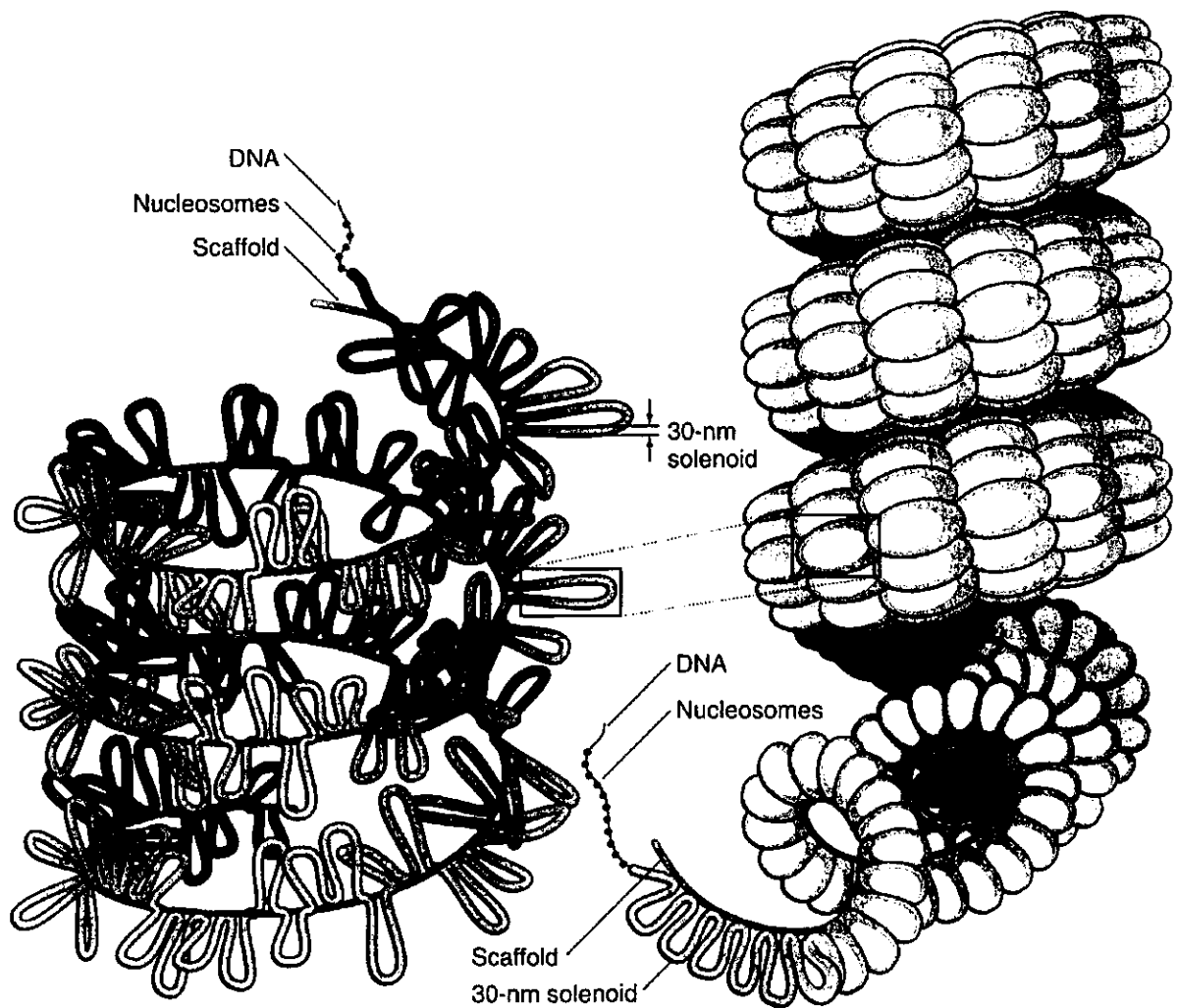


Figura f La figura ilustra el arreglo del DNA para conformar un cromosoma. Tomada de Griffiths, et al, 1993, p. 473.

cromatina en todas las etapas del ciclo celular excepto durante la meiosis y mitosis. La cromatina es una estructura dinámica que se presenta parcialmente difusa y desenrollada durante la transcripción de los genes a RNAm y durante la replicación del DNA, de esta manera, este desenrollamiento local permite el acceso de las enzimas al DNA.

Entre 1977 y 1980, observaciones hechas bajo el microscopio electrónico por Aaron Klug mostraron un segundo nivel estructural de la cromatina. Esta fibra de cromatina tenía un diámetro de 30 nm<sup>1</sup> y la apariencia era más compacta, arreglando los nucleosoma individuales en paquetes, a esta estructura se le llamo solenoide (Ver figura d).

Cuando los cromosomas en metafase se tiñen con reactivos químicos que se pegan al DNA como el reactivo de Feulgen, y son observados bajo el microscopio, se pueden diferenciar dos regiones: una región densamente teñida llamada heterocromatina y una región menos teñida llamada eucromatina. La eucromatina se tiñe menos porque se encuentra menos empaquetada y se tiene la idea de que este estado es el más compatible con la transcripción y la actividad de los genes. En cambio, la heterocromatina en muchos organismos se ha encontrado en la región centromérica de los cromosomas. Una excepción es en el caso de el cromosoma Y de la *Drosophila*, que es heterocromatínico. Otro reactivo que ha ayudado a visualizar diferencias en el patrón de bandeado de los cromosomas es el reactivo de Giemsa. Después de teñirse los cromosomas se puede observar un contraste de bandas claras llamadas G y bandas oscuras llamadas G negativas. Se ha pensado que esta diferencia radica en la relativa proporción de bases, por ejemplo: las bandas claras G son relativamente ricas en guanina y citosina, mientras que las bandas oscuras G negativas son ricas en adenina y timina. También se ha encontrado que las bandas claras G se replican tempranamente y contienen todos los genes que se encargan de mantener las funciones esenciales de los genes (estos genes se mantienen activos en cada tipo celular). Por su parte, las bandas oscuras G negativas se replican más tarde y contienen genes específicos para los tejidos (Griffiths, J. F. A *et al*, 1993, p. 474-476). Al análisis de las diferencias en tamaño y en los patrones de bandeado que distinguen a cada uno de los 24 cromosomas es llamado cariotipo (Figura del apéndice A). Varios tipos de grandes anomalías incluyendo pérdida o copias extras de cromosomas o rupturas y rearrreglos (traslocaciones) pueden ser detectadas por el examen microscópico. El síndrome de Down en el cual las células contienen una tercer copia del cromosoma 21 es diagnosticado por esta clase de análisis.

Sin embargo, muchos cambios en el DNA son demasiado sutiles para ser detectados por esta técnica y requiere de un análisis molecular. Estas anomalías del DNA (mutaciones) son responsables de muchas enfermedades hereditarias tales como : la fibrosis quística, anemia de células falciformes y enfermedades cardiovasculares.

---

<sup>1</sup> Un nanometro equivale a 10<sup>-9</sup> metros.

## Genes

Cada molécula de DNA contienen muchos genes ; la unidad funcional y física de la herencia. Un gen<sup>1</sup> es una secuencia específica de bases en los nucleótidos que lleva la información requerida para la construcción de proteínas ; las cuales proporcionan los componentes estructurales de las células y tejidos, así como las enzimas para reacciones bioquímicas esenciales, el genoma humano podría contener por lo menos 100 000 genes.

Los genes humanos varían ampliamente en longitud, a menudo tienen una extensión de miles de bases. Únicamente cerca del 10% del genoma tiene secuencias que codifican para proteínas (exones). Interespaciados dentro de muchos genes están las secuencias llamadas intrones, los cuales no tienen funciones codificantes. En general, se considera que el genoma contiene otras regiones, tales como las secuencias de control y regiones intergénicas, cuyas funciones son desconocidas. Mucho de este DNA llamado desconsideradamente "basura" puede tener funciones fisiológicas importantes aún no desconocidas. Este tema en la actualidad es muy polémico y las investigaciones sobre el genoma abrirán la posibilidad de resolver esta cuestión.

Todos los organismos entre sus compuestos tienen proteínas, los humanos pueden sintetizar por lo menos 100 000 tipos diferentes. Las proteínas son moléculas grandes y complejas de largas cadenas de subunidades llamadas aminoácidos (se encuentran 20 tipos de aminoácidos esenciales en los seres humanos). Dentro de los genes, cada secuencia específica de tres bases de DNA (tripletes o codones) codifican para un aminoácido. Una proteína codificada por un gen de 3000 pb (sin contar los codones de inicio y de término, así como los intrones) contiene 1000 aminoácidos.

Hay varios tipos de DNA que serán descubiertos y analizados con el Proyecto Genoma Humano. Mencionamos anteriormente que se espera que serán encontrados unos 100 000 genes; Watson calcula que la cantidad podría ser mucho mayor. Otras estimaciones van entre 50 000 a 60 000. Cualquiera que sea la cantidad de genes, se dividen básicamente en cuatro tipos; el DNA que controla la función de los genes, el DNA que controla el inicio y término de la duplicación y el DNA que se expresa en forma de proteínas o enzimas.

Las instrucciones para codificar proteínas, desde los genes, son transmitidas directamente a través de un mensajero, el ácido ribonucleico (RNAm), una molécula intermediaria, transitoria y muy similar a una de las hebras del DNA y complementaria de la otra. Para que la información del gen pueda ser expresada se sintetiza una hebra de RNA complementaria (un proceso llamado transcripción) a partir de una hebra de DNA patrón en el núcleo celular. Este RNAm viaja del núcleo al citoplasma celular, donde sirve como molde para la síntesis de proteínas. En el laboratorio, la molécula de RNAm puede ser aislada para usarse como patrón para sintetizar una hebra de DNA complementaria (DNAc) la cual, a su vez, puede ser utilizada como sonda para localizar los genes correspondientes en un mapa cromosómico, explicado con detalles en el apéndice.

---

<sup>1</sup> El concepto como algunos otros de la ciencia no es tan simple, al respecto existen algunos trabajos como el de Carlson, E. (1966) *The gene: A Critical History*. Philadelphia: Saunders. y el de Kitcher Philip (1982) "Genes" *British Journal for the Philosophy of Science* 33: 337-359. en donde se ha reflexionado sobre este concepto.

## CAPITULO II

### Origen del Proyecto Genoma Humano

A principios de siglo, Morgan y sus colaboradores habían conseguido el mapeo de genes y posteriormente en 1960 Sanger y sus colegas intentaron y consiguieron la secuenciación de algunos genes. A pesar de la secuenciación de genes y de los esfuerzos de mapeo relacionados principalmente con enfermedades (Bishop, 1992) en varias partes del mundo, y de las reuniones internacionales y conferencias, *la posibilidad de conocer nuestro juego completo de instrucciones genéticas que en 1953 parecía un objetivo científico insoñable*" (Watson, 1990), empezó a ser una posibilidad que se vislumbró a mediados de los ochenta. La idea del Proyecto Genoma Humano (PGH) surgió en los Estados Unidos en 1984 en una conferencia en Alta Utah, realizada para evaluar el análisis directo de sobrevivientes de la bomba atómica. Ahí un grupo de científicos empezó a pensar en secuenciar todo el genoma humano; la conferencia fue auspiciada por el Departamento de Energía de los Estados Unidos (DOE<sup>1</sup>) (Cantor, 1990; Engel, 1993). En esa conferencia Robert Sinsheimer (biólogo molecular y rector de la Universidad de California en Santa Cruz) planteó la idea de fundar un instituto para secuenciar el genoma humano, el cual estaría en Santa Cruz.<sup>2</sup>

Después de la conferencia de Utah, la idea de secuenciar y mapear el genoma humano fue seriamente promovida por dos grupos independientes; el primero liderado por Charles De Lisi del DOE, con el interés de examinar los efectos de la salud ante la exposición de la radiación y la contaminación ambiental (Watson, 1990; Engel, 1993). El Departamento de Energía tenía gran interés en el estudio de los efectos biológicos de las radiaciones, incluyendo los esfuerzos extensos para determinar la frecuencia de mutaciones en los descendientes de Hiroshima y Nagasaki; tal programa parecía justificar, continuar y expandir las investigaciones en genética en el DOE (Davis, 1992). El DOE tenía programas de salud centrados en los cromosomas y genomas por lo que se ha pensado que el verdadero origen del PGH son los programas de salud del DOE (Leder, 1990).

Por su lado, a partir de 1981 Japón había iniciado un plan modesto para mejorar la tecnología de secuenciación del DNA humano, aprovechando la destreza japonesa. Temiendo el triunfo japonés, científicos y políticos estadounidenses se lanzaron a conseguir el mismo objetivo (Suzuki y Kudtson, 1991); ante esta situación el DOE tomaba la iniciativa pensando en utilizar las instalaciones y la infraestructura de informática de sus proyectos militares. Por otro lado, Robert Sinsheimer, quien estaba al frente de un segundo grupo convocó a una docena de los mejores biólogos moleculares de los Estados Unidos en mayo de 1985, a una conferencia sobre genética molecular, esta conferencia fue la primera ocasión en la que se propuso, la idea de secuenciar el genoma humano completo; de igual forma, se consideraron los aspectos técnicos para su realización y se discutió la manera de llevarlo a cabo<sup>3</sup>. Esta conferencia no dio el resultado para establecer un Instituto o campus como pretendía R. Sinsheimer sino planteó la idea de un proyecto de grandes proporciones

---

<sup>1</sup> Department Of Energy.

<sup>2</sup> (Watson, 1990; Watson y Cook-Deegan, 1991; Barry, 1993; Engel, 1993).

<sup>3</sup> (Lewin, 1986a; Watson, 1990; Watson y Cook-Deegan 1991; Barry, 1993; Engel, 1993).



en la mente de algunos biólogos moleculares como Walter Gilbert quien se convirtió en un ferviente abanderado del proyecto.

En mayo 1986, el DOE organizó un taller en Santa Fe Nuevo México en la que el primer día Walter Gilbert dijo “*que el total de la secuencia sería como el Santo Grial de la genética humana*” (Lewin, 1986a);<sup>1</sup> por lo tanto un objetivo central. Durante esa misma semana, Renato Dulbecco (premio Nobel) y presidente del Salk Institute publicó independientemente un pequeño artículo en Science; defendiendo la secuenciación del genoma y argumentando que la secuencia podría ser útil en las investigaciones del cáncer<sup>1</sup>.

Estas propuestas se formalizaron al mismo tiempo, en Cold Spring Harbor en 1986, en un simposium sobre la biología molecular del *Homo sapiens* (Molecular Biology of *Homo sapiens*) en el que Walter Gilbert y Paul Berg coordinaron una sesión del “Proyecto Genoma Humano”. En este encuentro hubo escepticismo entre algunos científicos, principalmente porque se pensó, si era apropiado, que un programa de esa naturaleza fuera dirigido por una agencia como el DOE<sup>2</sup>. En la conferencia de Cold Spring Harbor, Eiichi Soeda, señaló los planes de su país y de algunas compañías como Hitachi y Fuji de invertir junto con el Instituto Riken en Tokio, en los esfuerzos de automatización de la secuenciación; de esta forma los japoneses tenían a la vista un proyecto de secuenciación a gran escala, que de realizarse colocarían a Japón en una posición de ventaja biotecnológica (Lewin, 1986a). En este marco, el proyecto empezaba a tener un fuerte impulso por razones de interés económico.

Después de la conferencia de Cold Spring Harbor se celebraron varias conferencias para discutir el proyecto genoma humano (Watson y Cook-Deegan, 1991). En ese mismo año de 1986, Charles De Lisi director de la OHER<sup>3</sup> (Oficina de Investigación Sanitaria) del DOE, quien tomó la iniciativa de secuenciación (Lewin, 1986a) propuso que el DOE aumentara su participación, principalmente porque llevaba mucho tiempo interesado en la genética humana y las mutaciones. Por ello en 1987 el DOE inició las investigaciones con el objetivo de realizar mapas de todos los cromosomas humanos, intentando quedarse con la dirección de estas, argumentando que contaba con mejores instalaciones para desarrollar el proyecto. Sin embargo, los dirigentes del Instituto Nacional de Salud (NIH<sup>4</sup>) reaccionaron ante esa intención, entre ellos Watson quien se había convencido de que el proyecto era posible, pero no podía dejarse en manos del DOE sino que tenía que estar dirigido por otro grupo de científicos. A Watson le parecía que el DOE estaba lleno de físicos y pocos biólogos ocupando una baja posición en la lista de prioridades del proyecto, le parecía que el curso de las investigaciones podrían estar mejor en manos del NIH (Watson, 1990).

Ante estas discrepancias, el conjunto de ideas y propuestas llegó en agosto de 1986 al Consejo de las Academias de Ciencia e Ingeniería, el cual convocó a una reunión en Wood Hole Massachusetts, de la que surgió un comité (Comité del Genoma Humano) con plenos poderes para examinarlas y para decidir sobre las líneas de investigación. Mientras un grupo escogido de científicos concluía su informe, el gobierno federal decidió financiar

---

<sup>1</sup> Dulbecco, Renato (1986) A Turning Point in Cancer Research: Sequencing the Human Genome. *Science*, **231**: 1055-1056.

<sup>2</sup> (Lewin, 1986a; Watson, 1990; Watson y Cook-Deegan, 1991; Cantor, 1990; Engel, 1993).

<sup>3</sup> Office of Health & Environmental Research.

<sup>4</sup> NIH-National Institute of Health.

la investigación del genoma humano a través del NIH, por lo que en diciembre de 1987 concedió a estas investigaciones 17.2 millones de dólares.

En febrero de 1988 después de 14 meses de estudio, el comité de investigación nacional compuesto por los mejores científicos de las universidades propusieron el "Proyecto del Genoma Humano" en un reporte de 102 páginas titulado "Mapeo y Secuenciación del Genoma Humano" (Engel; 1993; Haq, 1993). Después de que el consejo discutió las ideas, propuso iniciar primero con el mapeo de los cromosomas humanos, al parejo de mapas de organismos modelo incluidos y la secuenciación de éstos, y como parte final, la secuenciación a gran escala del genoma humano; recomendaba un presupuesto de \$200 millones de dólares por año durante 15 años. Asimismo, designaba un papel esencial para el Instituto Nacional de Salud en Bethesda. Muchos biólogos mostraron su oposición personal al proyecto debido a que muchos fondos nacionales serían desviados hacia el PGH descuidando otras investigaciones biológicas (Weis, 1990).

En marzo de 1988 James Wyngaarden, director del NIH, anunció la creación de una oficina del NIH para las investigaciones del genoma humano, el Centro Nacional para las Investigaciones del Genoma Humano (NCHGR<sup>1</sup>) al mismo tiempo que invitaba a Watson a asumir la responsabilidad de dirigir la investigación y el primero de octubre de 1988 Watson fue nombrado director asociado del Centro Nacional de Investigaciones del Genoma Humano en el NIH. Watson inició su función en octubre de 1989 con un grupo de asesoría para organizar el proyecto, ese mismo día el DOE y el NIH firmaron un memorándum de entendimiento en el que el DOE y el NIH se comprometían a cooperar en la investigación (Engel, 1993; Haq, 1993).

En 1989 representantes de NIH y del DOE y otros expertos se reunieron en Cold Spring Harbor para elaborar un programa para el Proyecto del Genoma Humano. el informe conjunto que salió de aquella reunión llegó al Congreso de la Nación en febrero de 1990, en este se establecían objetivos concretos que la investigación debería cumplir en los primeros 5 años (Cantor, 1990). Además, se señalaban las recomendaciones del comité; el programa fue aprobado por el Congreso, destinándose \$200 millones de dólares por año, durante 15 años a partir de octubre de 1990, fecha que fue señalada como el inicio del proyecto, fijándose la fecha de término el 30 de septiembre del año 2005 (Engel, 1993; Haq, 1993).

A principios de 1990 el DOE y el NIH acordaron trabajar juntos en el programa del genoma humano y de otros organismos. El plan de trabajo estableció varios centros para la investigación del genoma humano en laboratorios nacionales y universidades a través del país (Keleher, 1993). Entre éstos, se decidió integrar un centro del genoma en los laboratorios Lawrence Berkeley, dirigidos por Anthoni Carreno y en los Alamos donde se estaban mapeando los cromosoma 14 y 16. Los esfuerzos del DOE estarían encaminados a mapear todos los genes expresados o DNAC, estrategia aprobada por Sydney Brennen en el Medical Research Council en Inglaterra, en principio rechazada por el NIH, argumentando que muchos genes importantes se dejaban fuera con la estrategia de DNAC, debido a su baja expresividad (Leslie, 1991a). Sin embargo, el empleo de esta estrategia resolvía el problema de mapear y secuenciar a ciegas el genoma humano. También fueron incluidos el

---

<sup>1</sup> National Center of Human Genome Research.

Howard Hughes Medical Institute, La Fundación Nacional de Ciencias (NSF<sup>1</sup>), sin un programa en sí mismo, pero aportando instrumentos e investigaciones en plantas y otros organismos, y el Departamento de Agricultura que centraba sus estudios en plantas y animales de granja (Watson y Cook-Deegan, 1991). Otros centros en los que se pensó que podía compartirse las investigaciones del genoma en E. U., fueron: la Universidad de California en San Francisco dirigida por Richard Myers quien planeó mapear el cromosoma 4, uno de los más largos. En el MIT<sup>2</sup>, Eric Lander, planeó mapear el genoma completo del ratón (*Mus musculus*). La Universidad de Washington dirigida por Schlessinger pensó en tres grandes proyectos, entre ellos, mapear el cromosoma 7 y el cromosoma X. La Universidad de Michigan, dirigida por Francis Collins, quien más tarde sería director del proyecto junto con su director asociado, planearon mejorar y automatizar las etapas de análisis de unión y mapeo físico. El Salk Institute donde Glen Evan y colegas continuarían sus esfuerzos para mapear el cromosoma 11. Por último, entre los centros importantes estaba Stanford, en donde David Botstein y Ron Devis propusieron un centro para secuenciar el genoma de levadura (Leslie, 1990).

Finalmente, el "Proyecto Genoma Humano" quedaba como una investigación coordinada con el objetivo de producir en detalle el mapa físico y genético de cada uno de los 24 cromosomas humanos, aproximadamente 3000 millones de pares de bases (Engel, 1993). Si se análoga esa información a una enciclopedia, vendrían a ocupar unos 1000 volúmenes de mil páginas cada uno y cada página con mil palabras. Pensando en libros, el trabajo del PGH equivaldría a hacer una copia de un solo libro, mientras que toda la humanidad completa sería como "una biblioteca viviente" (Di Mauro;1996). En el "plan maestro" del ser humano se encontrará la información de 100 000 genes y tres millones de pares de bases que forman el genoma humano.

En 1990, 300 científicos de 35 países se reunieron en París, Francia en la sede central de la UNESCO para discutir la intención de generar una cooperación internacional del "Proyecto Genoma Humano", en esa reunión, Watson aclaró que podían bajar los costos si había una cooperación internacional, además de que no consideraba adecuado que los datos se compartieran con naciones que no participaran en la medida de sus economías. Una amenaza dirigida principalmente a científicos japoneses (Coles, 1990a, 1990b).

Watson estuvo al frente como director del centro, desde el 4 de abril de 1988, hasta su renuncia en abril de 1992. Watson renunció después de que se vio involucrado en problemas de patentes con industrias biotecnológicas que más adelante discutiremos. Michel Gottesman fungió como interino mientras Watson presentaba su retiro y se designaba al nuevo director del proyecto, Francis Collins investigador de la Universidad de Michigan. Cuando Francis Collins inició como director, cargo que ocupa actualmente, dijo que el programa tendría un fuerte apoyo en el enfoque del mapeo y secuenciación, pero que desde su nuevo laboratorio del NIH formaría una línea más médica, priorizando las investigaciones biomédicas principalmente hacia el desarrollo de métodos de diagnóstico y terapias para enfermedades genéticas (Marx, 1993; Blume, 1993).

Podemos darnos cuenta, que tanto el origen del proyecto, como el desarrollo del mismo en los Estados Unidos y en los países participantes (mencionados más adelante), ha

---

<sup>1</sup> The National Science Foundation.

<sup>2</sup> Massachusetts Institute of Technology.

estado determinado por factores entrelazados que forman una relación muy compleja entre la economía, la investigación científica y la práctica médica. A pesar de que actualmente el factor económico determina en gran parte las líneas de investigación; podemos ver que los conocimientos médicos y biológicos siguen formando parte de la realidad inmediata de los seres humanos, y que como en el pasado y durante toda la historia de la especie humana sigue existiendo la necesidad de una atención médica eficaz para la población, esa necesidad es la que ha impulsado en gran medida el desarrollo del PGH y de igual manera, el proyecto retroalimentará muchas áreas de la investigación científica, así como de la aplicación y del desarrollo tecnológico.

### **Objetivos y agenda del proyecto**

Los siguientes objetivos representan tanto la Iniciativa del Genoma Humano (Nombrada así por parte del Departamento de Energía ) como el plan formalizado del "Proyecto Genoma Humano", Los objetivos generales son mapear y secuenciar el genoma humano. Sin embargo, existen otros objetivos interrelacionados.

En seguida mostramos la agenda general del programa del Proyecto Genoma Humano, el cual está destinado a cumplirse en quince años. Fue tomada de Yager *et al.* publicado en TIB el 16 de diciembre de 1991.

### **Agenda y programa del Proyecto Genoma Humano**

1990---1995 mejorar la tecnología para mapear y secuenciar; así como el área de la informática. Crear mapas genéticos y físicos de baja resolución del genoma humano y del genoma del ratón (*Mus musculus*). Completar mapas genéticos y físicos de organismos simples: un nemátodo (*Caenorhabditis elegans*), una bacteria (*Escherichia coli*), una planta acuática (*Arabidopsis thaliana*), la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*), y la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*).

1995---2000 continuar mejorando la tecnología del genoma y perfeccionar el mapa genético humano, perfeccionar el mapa físico del genoma humano, terminar el mapa y la secuenciación de los genomas de los organismos modelo.

2000---2005 secuenciar finalmente el 95% del genoma humano (excluyendo grupos de DNA repetitivo), secuenciar regiones del genoma del ratón que corresponda a las regiones de importancia biomédica del genoma humano. Estudiar la importancia del genoma. Crear versiones de trabajo de base de datos integrados que contengan mapas genéticos y físicos de la secuenciación del humano y de organismos modelo.

Esta agenda presenta una ampliación de puntos en otras áreas de investigación:

Desarrollo de formatos de base de datos para los mapas.

Estudio sistemático de la función de los genes.

Definición de patrones de RNAm.

Mapear y secuenciar más organismos modelo.

Estudio de cuestiones éticas, sociales y legales de la investigación del genoma humano.

Para llevar a cabo esta agenda y programa hay una cantidad impresionante de pequeños proyectos que puede verse en los reportes anuales del Proyecto Genoma Humano (proyectos en Estados Unidos) que son publicados por el Department of Energy Office of Health and Environmental Research, Human Genome y el Department of Commerce, Springfield, Virginia. Las referencias pueden encontrarse completas en la bibliografía.

En resumen, los objetivos principales son: localizar el sitio que ocupa cada uno de los genes en cada cromosoma, en otras palabras, se intenta crear un mapa que relacione entre sí a todos los genes humanos y el segundo objetivo es averiguar la secuencia de 3000 millones de pares de bases que integran el genoma humano, aproximadamente 50 000 a 100 000 genes, con esta información se elaborará un mapa físico que relacionará entre sí las secuencias conocidas del DNA.

## Países desarrollados

El esfuerzo de los Estados Unidos de mapear y secuenciar el genoma humano ha sido seguido por otros países del mundo desarrollado y en menor medida de acuerdo con las posibilidades de sus economías, por los países en vías de desarrollo; el tamaño del presupuesto y los objetivos inmediatos difieren entre los países participantes, reflejando muchos factores, como su historia, cultura y estructura social. Entre estos países desarrollados están: el Reino Unido, Japón, Los Países Bajos, Escandinavia, Rusia, Suecia, Canadá, Francia, Italia, Alemania, Hungría, Suiza y Dinamarca, este último país ha realizado una contribución importante en la toma de muestras de DNA de varias familias de diferentes poblaciones (Davis, 1992; Engel, 1993).

Con Estados Unidos a la cabeza, los europeos pensaron en asegurarse de no quedar atrás en las investigaciones, sobre todo por la desventaja biotecnológica que esto implica (Dickman y Aldhous; 1991). Además, era necesario hacer frente al control de las enfermedades y a otras áreas de importancia cultural y económica, en particular no descuidar la industria farmacéutica. En 1991 Europa contaba con seis grandes iniciativas del genoma humano dirigidas por la comunidad Europea; en la que se había lanzado una propuesta clara para este continente, buscando abatir el costo de las investigaciones, a través de una mayor colaboración, cooperación y coordinación. Para conseguir esto se propuso que la Fundación de Ciencia Europea (ESF<sup>1</sup>) coordinara las investigaciones en Europa.

La Comunidad Europea (CE) propuso en julio, la creación de su propio proyecto genoma humano; Alemania Occidental (antes de la caída del muro) se oponía al programa de investigación del genoma propuesto por la CE, el cual llevaba el desafortunado título de "medicina predictiva", con la objeción de ver una tendencia eugenésica en el programa original<sup>2</sup>.

Por otro lado, cada país europeo contaba con programas propios, con cierto grado de coordinación. Entre estos grandes proyectos se encontraban La Asociación Francesa de Distrofia Muscular (AFDM<sup>3</sup>), quien financió un gran proyecto llamado "Généthon", diseñado para coordinar los mapas de genes de enfermedades a gran escala junto con la secuenciación genómica. Asimismo, gran parte de la actividad europea se encuentra en Heidelberg, Alemania, en donde el Laboratorio de Biología Molecular Europeo (EMBL<sup>4</sup>), tiene una fuerte tradición en el análisis y hace una contribución específica en la base de datos de DNA. En particular, la Comunidad Europea apoya desde Bruselas, los programas de participación entre 20 o más países de la CE. Otro de los programas iniciales apoyado por 25 laboratorios en 10 países europeos fue Eurogen (Bodmer, 1992), que inició los trabajos en el mapeo de los cromosomas 11, 17, 21 y X a través del intercambio de genotecas de cósmidos<sup>5</sup>, apoyados por el desarrollo tecnológico manejando bases de datos; en este programa también fueron incluidas las cuestiones éticas y legales. Una prioridad del

---

<sup>1</sup> European Science Foundation.

<sup>2</sup> (Dickman y Aldhous, 1991; Kevles, 1993).

<sup>3</sup> French Muscular Dystrophy Association.

<sup>4</sup> European Molecular Biology Laboratory.

<sup>5</sup> Es un vector de clonación usado para clonar fragmentos de más de 40 Kb.

programa fue mejorar la accesibilidad a la base de datos del genoma "Genome Data Base" (GDB) y a otros programas de secuenciación y análisis de organismos modelo.

En seguida se revisaran brevemente la participación de algunos países y organizaciones.

## **Inglaterra**

La idea de mapear y secuenciar el genoma a gran escala originada en los Estados Unidos, fue difundida rápidamente por todo el mundo y el Reino Unido al igual que otras potencias económicas no quisieron quedarse rezagadas en el campo de la biotecnología y decidieron iniciar su "Proyecto Genoma Humano". El Reino Unido desarrolló una propuesta a través de Walt Bodmer y Sydney Brenner (una de las principales figuras de la biología molecular en Inglaterra), quienes estuvieron presentes en la conferencia de Cold Spring Harbor y en otras conferencias realizadas sobre el tema, planearon un programa que involucraba al Consejo de Investigación Médica (MRC<sup>1</sup>) y a la Fundación Imperial para las Investigaciones del Cáncer (ICRF<sup>2</sup>). Al mismo tiempo, Sydney Brenner envió una propuesta a la Comunidad Europea, que fue recibida en octubre 2 de 1986 en la que sugería un proyecto genoma de la Comunidad Europea (Watson y Cook-Deegan, 1991). Sydney Brenner convenció al consejo inglés, de la necesidad de conseguir fondos para establecer un programa especial de investigación del genoma humano en el período de 1987-1988. Los británicos se dieron cuenta de que sus recursos no alcanzarían la magnitud del programa norteamericano, y decidieron emplear la estrategia de concentrarse en la secuenciación del DNAc, por la ventaja de conocer genes funcionales. Por otro lado, también decidieron secuenciar el genoma completo del nemátodo (*Caenorhabditis elegans*), en el que han estado trabajando durante muchos años. Además establecieron proyectos con levaduras (*S. cerevisiae*), bacteria (*E. coli*), la planta acuática (*Arabidopsis thaliana*) y la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) como organismos modelo. Finalmente, el programa genoma del ICRF en conjunto con el MRC inició en febrero de 1989, destinándose 21 millones de dólares para un programa de tres años designado como el "Proyecto del Mapeo del Genoma Humano" (Davis, 1992).

## **Francia**

Dos semanas después del inicio oficial del "Proyecto Genoma Humano" en los Estados Unidos, Francia decidió crear su propio programa de investigación en el área del genoma humano ante las palabras amenazantes de Watson, quien advertía que si la comunidad internacional no participaba en los costos de secuenciación del genoma no podrían tener acceso a la información (Coles, 1990b). Francia ya tenía una participación importante en las investigaciones del genoma humano a través del Centro de Estudio del Polimorfismo Humano (CEPH<sup>3</sup>), en colaboración con Estados Unidos; en este centro, se habían estado reuniendo muestras de cultivos celulares de diferentes familias; casi todo los

---

<sup>1</sup> Medical Research Council.

<sup>2</sup> Imperial Cancer Research Foundation.

<sup>3</sup> Centre d'Etude du Polymorphisme Humain.

mapas genéticos que existen en la actualidad se han construido utilizando el material proporcionado por el CEPH (Watson y Cook-Deegan, 1991). En Francia, las discusiones se dieron en varios centros de investigación pero ninguna había sido a nivel gubernamental: ésta se dio por fin hasta junio de 1990. El ministro del Instituto Nacional de Salud e Investigación Médica (INSERM) junto con Hubert Curien trazaron un plan para un nuevo programa nacional del genoma humano, anunciado el 17 de octubre de 1990 con una gran participación del CEPH, el cual como ya mencionamos había sido un centro de colaboración para mapas genéticos de ligamiento (Watson y Cook-Deegan, 1991). El programa fue preparado por Philippe Kouzilsky (Instituto Pasteur, París) y en él se proponían tres grandes opciones científicas: 1) un enfoque en la secuenciación de DNAc, como una estrategia opuesta a la secuenciación del genoma completo, 2) secuenciación completa de genomas pequeños tales como el de *Bacillus subtilis*, y el de *Arabidopsis thaliana* (Grausz, 1993), como organismos modelo para investigaciones del funcionamiento de los genes; 3) desarrollo de softwares relacionados a las investigaciones del genoma.

La investigaciones del genoma humano en Francia, han mostrado una fuerte tradición clínica y una expansión de metodologías de DNA recombinante, después de la década de los setenta, particularmente a través de la experiencia de estudiantes de posdoctorado provenientes de los Estados Unidos. Así mismo la investigación en Francia, se realiza en varios laboratorios interesados en la genética de enfermedades humanas. Los centros principales son: El Centro Nacional para la Investigación Científica (CNRS), por sus siglas en francés) y el INSERM. Francia al igual que los demás países europeos decidió seguir la estrategia de investigación del DNAc (Jordan, 1990).

Francia cuenta con una industria privada para secuenciar genes a gran escala. Uno de estos centro privados es el CEPH, este centro tiene disponible para los investigadores del mundo, un banco único de material genético de más de 60 grandes familias (el propósito es utilizar el material estándar con mayor eficacia para localizar y secuenciar genes responsables para cerca de 4 mil enfermedades hereditarias (Coles, 1990b). En 1989 el gobierno francés decidió aportar 4 millones de dólares por año como contribución al CEPH. Mientras el proyecto francés del genoma era lanzado con Daniel Cohen como director, con la participación conjunta entre el gobierno, el CEPH y la AFM se fundó el laboratorio Genéthon (Aldhous, 1992); como lo mencionamos anteriormente, el laboratorio Genéthon es una gran industria de secuenciación establecida cerca de París.

## **Italia**

La discusión sobre el Proyecto Genoma Italiano, fue iniciada en 1987 por el Consejo de Investigación Italiano (CRNI); en respuesta al aumento de interés alrededor del mundo del conocimiento del genoma humano. El proyecto italiano fue pensado para una colaboración de varias unidades del CRNI y diferentes universidades e institutos a lo largo de Italia. Todas estas unidades poseen esencialmente toda la técnica y aparatos necesarios para el proyecto, pero ninguna podía hacer esto por sí misma, por lo que se consideró en la colaboración como algo esencial. Se acordó que la colaboración podría consistir en el intercambio tecnológico, de reactivos, cultivos celulares y selección de un objetivo general. Los objetivos comunes más útiles podrían ser enfocados en un segmento específico del genoma humano, Los colaboradores propusieron trabajar con el cromosoma X y se acordó



que este interés podría mantenerse. Fue determinado que un enfoque más estrecho podría ser utilizado para concentrar los pocos recursos en una forma eficiente y por una variedad de razones prácticas. El enfoque fue trabajar con la última parte del brazo largo del cromosoma X; esta área fue considerada biológicamente interesante debido a su riqueza de genes, aproximadamente Xq24 a Xqter<sup>1</sup>.

Renato Dulbecco fue designado como coordinador del proyecto junto con Paolo Vezioni. el "Proyecto Genoma Italiano" presenta una serie de programas, con los que dieron inicio formal, las investigaciones del genoma en Italia (Dulbecco, 1990). Entre estos programas están:

Preparación de líneas híbridas y preparaciones de clones de la región antes mencionadas del cromosoma X.

Programa del Mapeo basado principalmente en dos tipos de vectores, los YACs que se empezaron a realizar principalmente en Nápoles y Roma, y los cósmidos en Milán.

Estudio de características sobresalientes. El Dr. D. Teniola en Pavia, continuaba trabajando en la identificación de genes. También en Pavia V. Sgizamella estaba interesado en los telómeros del cromosoma X y estaba trabajando en la clonación de inserciones largas de estas regiones, para posteriormente realizar la secuenciación.

Química de Proteínas. En el laboratorio del Dr. A. Fontana (Padua) y el Dr. A. Albertini (Brescia) empezaron su trabajo con el aislamiento, caracterización y síntesis de péptidos, se pretende colaborar con otros programas de investigación en problemas relacionados en el análisis de productos de expresión de genes incluyendo la secuencia de proteínas, así como la producción y el uso de anticuerpos monoclonales y anticuerpos anti-peptídicos para el aislamiento y análisis de proteínas.

Desarrollo tecnológico. El Dr. C. Schneider y colaboradores (Trieste) empezaron centrándose en técnicas de mayor velocidad de secuenciación de DNA.

Bioinformación y bases de datos. El Dr. C. Matesi y colaboradores (Pavia), están interesados en descifrar la información contenida en la secuencia de bases de datos del genoma humano. Por su parte El Dr. Sacien y colaboradores (Bari) también están interesados en reconocer el significado biológico de las secuencias.

El Dr. L. Milanissi y colaboradores (Milán) iniciaron su trabajo en la organización de la información contenida en la genoteca del DNA del EMBL<sup>2</sup> y el GenBank así como la información de bases de datos de proteínas (Dulbecco, 1990).

## Rusia

Las investigaciones del genoma humano en Rusia<sup>3</sup> tienen dos estrategias, una a partir de un proyecto que surgió dentro de la estructura de la ex URSS propuesto por Alexander Bayev y Andrei Mirzabekov<sup>4</sup>, quienes participaron en el Simposium sobre la Biología Molecular del *Homo sapiens* celebrada en Cold Spring Harbor en 1986. Estos

---

<sup>1</sup> Los cromosomas se dividen en un brazo corto (p) y brazo largo (q), cada uno se divide en regiones y las regiones en bandas. Las signos indican que la región se encuentra en la banda 4 de la región 2 del brazo largo de un cromosoma X a la región terminal del cromosoma X.

<sup>2</sup> European Molecular Laboratory.

<sup>3</sup> <http://www.anl.gov/OPA/news94/news941208.html>

<sup>4</sup> <http://www.anl.gov/OPA/ovw.html>

científicos rusos crearon un programa del genoma humano en Rusia que fue aprobado por su gobierno, para el presupuesto de 1989 y fue extendido hasta 1990 (Watson and Cook-Deegan, 1991) con posibilidades de extenderse.

La otra estrategia, es un proyecto conjunto firmado en Moscú (el 8 de diciembre de 1994) entre Argonne<sup>1</sup> (Argonne es uno de los laboratorios científicos más grandes fundados federalmente en Los Estados Unidos, opera bajo la Universidad de Chicago como parte de los sistemas de laboratorios del DOE) y La Academia Rusa de Ciencia y El W. A. Engelhardt Institute of Molecular Biology. Andrei D. Mirzabekov, uno de los científicos rusos más distinguidos y director del Instituto Engelhardt, quien además es miembro de las Academias de Ciencia Rusa y Europea, co-fundador del "Proyecto Genoma Humano Ruso" y vicepresidente de la organización Internacional del Genoma Humano (HUGO), ha sido nombrado para dirigir el Proyecto de Investigación del Genoma Humano en el Laboratorio Nacional Argonne, cerca de Chicago.

El proyecto conjunto esta destinado a desarrollar nuevos biochips supereficientes para codificar el genoma humano y permitir una lectura más natural para construir y operar el cuerpo humano. Si los biochips resultan exitosos, podrían permitir mejorar las formas para diagnosticar algunas enfermedades genéticas, tales como el cáncer, la enfermedad de Alzheimer, la esclerosis múltiple y podría también ayudar a codificar genomas de animales, permitiendo mejorar los diagnósticos veterinarios y tratamientos, así como una nueva técnica de cría de ganado para obtener mayor cantidad de carne y menos grasa.

En septiembre de 1993, Argonne construyó una nueva tecnología y software de computadora para descodificar el genoma humano, para la compañía biotecnológica Hyseq, recién iniciada en California.

## Alemania

A pesar de su oposición inicial al proyecto, en la actualidad Alemania tiene una gran participación en las investigaciones del genoma humano, principalmente a través del Centro de Investigación del Cáncer de Alemania<sup>2</sup> (DKFZ<sup>3</sup>) en Heidelberg, fundado en 1964 como el punto central de investigaciones básicas en Alemania, actualmente tiene más de 1500 empleados donde los biólogos representan la mayor parte de los científicos. En estos laboratorios se realizan investigaciones interdisciplinarias<sup>4</sup> como son: etiología del cáncer y diferenciación celular, factores de riesgo para el cáncer, prevención y diagnóstico del cáncer, terapia experimental, virología e inmunología de tumores.

El DKFZ ha desarrollado un amplio programa del genoma humano, con un interés particular en la integración y el desarrollo de bases de datos de las investigaciones del genoma; de esta forma el DKFZ sirve como un nodo en la Red Europea para la Biología Molecular (EMBnet). En la EMBnet cerca de una docena de centros nacionales de biocomputadoras incluyendo el Laboratorio de Biología Molecular Europeo (EMBL<sup>5</sup>), que es otro de los centro importantes de Alemania, colaboran con los datos y el intercambio de

<sup>1</sup> [http://www.anl.gov/CMB/cmb\\_mirz.html](http://www.anl.gov/CMB/cmb_mirz.html)

<sup>2</sup> [http://www.dkfz\\_heidelberg.de/fs\\_e.html](http://www.dkfz_heidelberg.de/fs_e.html)

<sup>3</sup> Deutsches Krebsforschungszentrum.

<sup>4</sup> [http://www.dkfz\\_heidelberg.de/fs8\\_e.html](http://www.dkfz_heidelberg.de/fs8_e.html)

<sup>5</sup> European Molecular Biology Laboratory.

software, así como en la comunicación entre los países europeos; el trabajo con las computadoras es aplicado al análisis de secuencias del genoma y al mejoramiento de las base de datos. De igual forma en el perfeccionamiento de paquetes de software para aplicaciones químicas y comerciales, como por ejemplo, la creación de modelos por computadoras de moléculas de DNA o para simular los efectos de drogas cancerígenas.

## Japón

Japón ha trabajado desde principios de los ochenta en la fabricación de tecnología de secuenciación (Suzuki y Kudtson, 1991), factor que probablemente sirvió como presión para que el gobierno estadounidense diera inicio al "Proyecto Genoma Humano". Sin embargo, fue uno de los últimos países industrializados en establecer un programa coordinado de investigación del genoma humano a nivel nacional, debido en parte a que los científicos japoneses no mostraban mucho interés en una secuenciación del genoma humano a gran escala (Davis, 1992), y por otro lado, las industrias japonesas decidieron invertir no tanto en la investigación, sino en la tecnología de secuenciación del genoma humano. Un científico japonés consejero del Instituto Chiba cercano a Tokio y Akiyoshi Wada de la universidad de Tokio, lanzaron una proposición para establecer una fábrica de secuenciación del DNA en Japón; la filosofía de Wada se basaba en *"en que la secuenciación del DNA, no es una actividad apropiada para científicos sino más bien es algo que puede ser realizado por técnicos y mecánicos"* (Swimbanks, 1991); desde luego que tengan un entrenamiento adecuado.

Posteriormente el gobierno japonés intentó coordinar varios esfuerzos para contribuir a los planes internacionales para secuenciar el genoma humano. En Junio de 1988, una comisión de biociencia fue organizada a través del consejo de ciencia. Esta comisión discutió las formas para iniciar el "Proyecto Genoma Humano Japonés" en las universidades. En Julio de 1989 entregaron un reporte del desarrollo del PGH en las universidades japonesas.

Por otro lado, un grupo de estudio, dirigido por el profesor Kenichi Matsubara de la Universidad de Osaka, inició un estudio preparatorio en las investigaciones del genoma por dos años a partir de 1989, como resultado de estas investigaciones se propusieron las siguientes consideraciones:

- 1.- La cooperación internacional era vital para el mapeo y secuenciación de genes, al mismo tiempo era necesario para Japón desarrollar de forma independiente un sistema de investigaciones para contribuir al proyecto internacional.
- 2.- Era necesario desarrollar avances técnicos y sistemas para el análisis del DNA.
- 3.- Era necesario iniciar estudios en el desarrollo de bases de datos y formar vías sistemáticas de registrar, anotar y almacenar los datos.
- 4.- Era necesario seleccionar varios organismos modelo, para conducir investigaciones del genoma, el conocimiento obtenido de tales proyectos podría beneficiar el "Proyecto Genoma Humano", así como también proporcionar datos valiosos de esos organismos.

El Ministerio de Educación, Ciencia y Cultura (MESC<sup>1</sup>), fue el primero que inició varios programas para realizar estos propósitos (Matsubara y Kakunaga, 1992); entre éstos se encontraban: el análisis del genoma humano, el mapeo cromosómico y genético, la construcción de genotecas de DNAc, el desarrollo de tecnología, el estudio de organismos modelo como *Bacillus subtilis* y *Schizosaccharomyces pombe*, estudios sobre problemas éticos, legales y sociales relacionados con el análisis del genoma y la creación de un nuevo centro, establecido en la primavera de 1991 en el Instituto de Ciencias Médicas de la Universidad de Tokio, el cual proporciona servicios de información entre las universidades. También se consideró necesario participar en congresos y talleres internacionales y crear programas especiales de entrenamiento para jóvenes investigadores.

Más de dos tercios de la investigación de la ciencia básica en Japón, se realiza en las universidades y está sostenida con fondos gubernamentales a través del MESC: este ministerio ha lanzado un programa de investigación del genoma en varias universidades japonesas.

En 1991 se realizó una conferencia por parte del Consejo de Ciencia y Tecnología patrocinada por la oficina del primer ministro. La discusión y el intercambio de información en esta conferencia con representantes de varios ministerios, fue utilizada para iniciar el "Proyecto Genoma Humano Japonés".

Cada uno de los diferentes ministerios está centrado en distintas investigaciones relacionadas con el genoma, coordinadas por el Ministerio de Educación, Ciencia y Cultura.

El Consejo de Ciencia y Tecnología, es una agencia para planear, implementar y coordinar actividades científicas y tecnológicas entre ministerios, en investigaciones relacionadas a la informática y al genoma; también inició planes para expandir el presupuesto en el desarrollo de máquinas secuenciadoras de DNA,

El Ministerio de Salud y Asistencia Social (MHWS) da prioridad a dos áreas de investigación: (1) estudios de genes causantes de enfermedades y (2) el desarrollo de una nueva tecnología para conseguir este objetivo.

El Ministerio de Salud y Asistencia Social ha estado trabajando con otros ministerios como el Ministerio de Agricultura, Forestal y Pesca, el cual mantiene interés en desarrollar proyectos del genoma de otros organismos como el arroz, que está incluido en un programa planeado para desarrollarse de 1991-1997.

Por otro lado, la industria privada japonesa y las compañías privadas como Nippon Steel Corporation, Kawasaki, Steel Corporation, Tokyo Electric, Power Company, Tokyo Gas Company, Hitachi, Mitsui, Toatsu Chemicals y varios bancos locales, no han estado muy interesada en el "Proyecto Genoma Humano" en sí mismo, sino en la posibilidad de desarrollar máquinas de diagnóstico para el mercado médico (Swimbanks, 1990; 1991). De esta forma podemos resaltar, que Japón se interesa principalmente en una participación dirigida hacia la creación de equipos y mejoramiento de tecnología.

## CANADA

En 1988, mientras Estados Unidos elaboraba su programa "Proyecto Genoma Humano" Canadá mostró interés en las investigaciones y un año más tarde (1989) el

---

<sup>1</sup> <http://www.genome.adjp/brochure/english/Direction.html>.

Gobierno Federal a través del Departamento de Industria, Ciencia y Tecnología acordó proporcionar 22 millones de dólares durante cinco años para crear el "Proyecto del Genoma Humano Canadiense", centrado en las investigaciones del mapeo y secuenciación del genoma. El programa canadiense participa en la investigación del genoma humano y de genomas de otros organismos, así como en el desarrollo de tecnología y en el estudio de las cuestiones éticas, sociales legales y médicas ligadas a las investigaciones con un interés especial en los genes relacionados con las enfermedades genéticas (Spurgeon, 1992; Robinson, 1993).

## HUGO

Para coordinar y facilitar el esfuerzo internacional, se ha creado una organización internacional HUGO, quien junto con la UNESCO intentan organizar las investigaciones que se realizan alrededor del mundo.

HUGO fue creada como un foro internacional en la primera conferencia de Cold Spring Harbor sobre el mapeo y la secuenciación, en abril 29 de 1988. Algunos investigadores como Victor McKusick, Sydney Brenner, Leroy Hood y James Watson decidieron fundar la organización del genoma humano (HUGO), que se encargaría de vincular los trabajos, procurando evitar repeticiones. HUGO está formado por científicos para coordinar el mapeo y la secuenciación alrededor del mundo. Actualmente cuenta con varias oficinas en diferentes regiones. Tiene una oficina regional en los Estados Unidos (Bethesda, Maryland); una oficina en Europa (Londres), una oficina en Moscú (la primera en obtener un apoyo gubernamental) y una en Japón (Osaka), las oficinas de HUGO son financiadas por varias organizaciones, tanto de apoyo gubernamental como de capital privado (Aldhous, 1991b, 1991c).

Los objetivos de HUGO incluyen :

Fomentar la colaboración para evitar competencia innecesaria y duplicación de esfuerzos, para coordinar las investigaciones del genoma humano con estudios de organismos modelo.

Coordinar el intercambio de datos relevantes y materiales.

Educar a investigadores y al público en las cuestiones científicas, éticas, sociales, legales y comerciales de la investigación.

Actuar como un coordinador para la información relacionada con el genoma, tales como las conferencias relevantes, programas del genoma alrededor del mundo e investigadores, disponibilidad de bases de datos y de material, así como crear un programa de entrenamiento para estimular la extensión de una nueva y prometedora tecnología.

HUGO tiene establecido un comité de expertos internacionales en talleres de mapeo y bases de datos, informática, ética, mapas del genoma del ratón y propiedad intelectual. Los talleres de cromosomas que HUGO realiza con frecuencia son únicos y fundamentales para el "Proyecto Genoma Humano". HUGO está jugando un papel central en el desarrollo coordinado de tales conferencias y ha asistido en la planeación de talleres de los cromosomas 2,3,13,16,19 y X.

## UNESCO

La UNESCO se ha propuesto la tarea de promover el interés de países en desarrollo a través de una coordinación adecuada, por lo que en octubre de 1988, en Valencia España, el director general de la UNESCO, Dr. Federico Mayor reunió un grupo de asesores científicos para considerar el papel que la propia UNESCO tendría en el "Proyecto Genoma Humano" -el cual considera la UNESCO- trata con el patrimonio genético del género humano, y en febrero 1989 se celebró la primera conferencia de la UNESCO en París, en la cual, los participantes acordaron que la UNESCO podía ayudar facilitando la cooperación internacional, particularmente hacia los países en desarrollo. Para considerar los planes, se celebró otra segunda conferencia en Moscú en junio de 1990. Entre las conclusiones que se acordaron, estaba que la UNESCO estaría a disposición para promover el interés de los países en desarrollo en el "Proyecto Genoma Humano".

El inicio de la participación de la UNESCO fue un programa del genoma humano aprobado para 1990-1991 en su 25ª conferencia general; los asistentes concluyeron que el conocimiento completo del genoma humano era de gran importancia y que la UNESCO debería influir simultáneamente en agencias y gobiernos para apoyar programas coordinados (Grisolía, 1991).

En 1989, se creó un Comité de Coordinación Científica (SCC<sup>1</sup>), el Dr. Santiago Grisolia fue invitado a asumir la presidencia del comité. Entre las funciones de este comité destacan, la cooperación internacional para facilitar el trabajo conjunto entre distintas organizaciones relacionadas con el genoma humano, facilitar el intercambio Norte-Sur, el cual podría ser realizado a través de diferentes actividades como son: revisión, evaluación y coordinación de presupuestos para conferencias, trabajos institucionales, cursos, etc. en las investigaciones del genoma humano. El Comité de Coordinación Científica (SCC), está compuesto por trece científicos (representantes de diferentes regiones geográficas y de organizaciones internacionales del genoma, tales como HUGO), quienes implantaron un programa con un presupuesto de 350 000 dólares para los primeros 5 años. Los miembros de la UNESCO y del SCC acordaron que podían concentrar sus actividades en el acceso y el uso de los datos obtenidos en las investigaciones de mapeo y secuenciación del genoma humano, así como también en cuestiones éticas y sociales relacionadas.

La UNESCO enfatiza el uso de programas de entrenamiento, como uno de los mejores medios para obtener cooperación internacional, con lo que se piensa podría disminuir la diferencia entre países desarrollados y en vías de desarrollo. De esta forma la UNESCO junto con la Academia de Ciencias del Tercer Mundo (TWA<sup>2</sup>) han propuesto un programa de entrenamiento con becas para países en vías de desarrollo, destinado a realizar investigaciones en centros científicos del primer mundo, con el fin de que los científicos aprendan las nuevas técnicas de investigación, así como la integración de un directorio para identificar las investigaciones del tercer mundo y sus necesidades. Actualmente el intercambio se hace de manera informal entre la comunidad científica, principalmente a través de becas, debido a que no existe una agencia o institución destinada para entrenamiento, intercambio y transferencia de tecnología entre países ricos y pobres. Uno

---

<sup>1</sup> Scientific Coordinating Committee.

<sup>2</sup> The Third World Academy of Sciences.

de los intereses primordiales de la UNESCO es asegurar una entrada continua de las naciones del tercer mundo en las investigaciones del genoma y en apoyar las conferencias internacionales con el fin de promover el intercambio científico .

Parte de los trabajos de la UNESCO son las Conferencia Norte-Sur del Genoma Humano, que ha promovido con regularidad desde 1992, en las que se ha reafirmado la intención del intercambio entre países pobres y ricos. La primera conferencia Norte -Sur del Genoma Humano fue realizada en 1991 en Caxambu, Brasil para incrementar la interacción entre científicos de los países desarrollados y los países del tercer mundo (McKusik. 1992), dos años más tarde en Beijing, China (1993), el año pasado en Nueva Delhi, India (1996), y la última en Guadalajara, México (1997). El éxito de la primera conferencia, estimuló el apoyo internacional de institutos y fundaciones dirigidas por la UNESCO para continuar el patrocinio de las conferencias. Las conferencias han proporcionado un foro para los científicos (de países en vías de desarrollo y países desarrollados) y para las personas interesadas, con la intención de discutir los objetivos biotecnológicos; estas conferencias también han facilitado un amplio intercambio de datos y puntos de vista, así como talleres que proporcionan un foro para discusiones interactivas e intercambio de ideas entre los participantes que provienen de diferentes campos de investigación del genoma humano, tales como el análisis del genoma humano, desórdenes genéticos, terapia de genes y patentes.

## Países en vías de desarrollo

### Latinoamérica.

Debido a que la UNESCO no podría cubrir los programas de muchos grupos y países, se pensó que sería mejor agruparlos por regiones, en grandes programas. Fruto de esos esfuerzos por establecer programas regionales orientados a las necesidades locales, surgió el "Programa Latinoamericano del Genoma Humano" (PLAGH<sup>1</sup>) que fue fundado bajo la iniciativa de la Red Latinoamericana de Ciencias Biológicas (RELAB<sup>2</sup>), durante un simposium de "Genética Molecular y el Proyecto Genoma Humano: Perspectivas para América Latina"; realizado en junio de 1990 en Santiago, Chile, financiado por la UNESCO. Los objetivos principales fueron: A) promover las investigaciones en el genoma humano, b) facilitar el entrenamiento en biología molecular a científicos jóvenes y c) favorecer la colaboración de estudios que podrían permitir el fácil acceso a la información en centros de referencias y redes. La principal fuente de financiamiento para el PLAGH ha sido la UNESCO; en este programa están integrados Chile, Brasil, México, Venezuela, Costa Rica, Colombia, Cuba y otros países de la región. Con este mecanismo de programas regionales se evitan sobrelapamientos con otros proyectos del genoma; además, permite una comunicación más eficaz entre la UNESCO y los países en vías de desarrollo, así como conocer mejor las tendencias y esfuerzos regionales.

Parte de las actividades realizadas en Latinoamérica, como ya lo mencionamos, es la realización de las conferencias entre el Norte y el Sur; la primera de estas conferencias Norte-Sur del genoma humano fue realizada en 1992 en Caxambu Brasil. La conferencia fue patrocinada principalmente por la UNESCO y la Sociedad Brasileña de Bioquímica y Biología Molecular, así como por HUGO y la Academia de Ciencias del Tercer Mundo. En esa conferencia se señaló que más del 75% de los seres humanos viven en países en vías de desarrollo, por lo que estos países deberían tener una mayor participación. La conferencia estuvo enfocada hacia el análisis de los problemas y las oportunidades para el intercambio y acerca de cuál podría ser el papel más apropiado de un área en desarrollo, como lo es Latinoamérica. En la conferencia, la diversidad biológica humana fue otro de los centros de discusión, Cavalli-Sforza junto con Alberto Piazzzi, participaron exponiendo el origen de las diferencias genéticas de las poblaciones (McKusik, 1992).

Del 16 al 19 de marzo de 1997 fue celebrada en México, la IV Conferencia Norte-Sur del Genoma Humano, organizada por la Organización de la Educación Científica y Cultural de las Naciones Unidas (UNESCO) y el Programa Latinoamericano del Genoma Humano (PLAGH), motivados por el rápido desarrollo de la tecnología y el conocimiento en la genética.

En esta conferencia también participaron personas integradas al PGH y HUGO, y ya que existe un convencimiento en mejorar el intercambio entre el Norte y el Sur. La IV conferencia Norte-Sur estuvo dirigida a revisar el progreso en las investigaciones del genoma humano, la contribución de los científicos de países en vías de desarrollo y a favorecer la cooperación entre científicos del Norte y del Sur.

---

<sup>1</sup> The Latin American Human Genome Program.

<sup>2</sup> The Latin American Network of Biological Sciences.



Existen otras actividades en cuanto a la región de América Latina, por ejemplo, la reunión de los integrantes del PLAGH, realizada en octubre de 1994 en Puerto Vallarta, durante el XI Congreso Latinoamericano de Genética Humana. Asimismo se han organizado diferentes cursos relacionados a la genética humana que han sido patrocinados por el PLAGH en Argentina, Brasil, Chile, México y Venezuela. En 1993, fueron patrocinados por la UNESCO varios cursos de genética molecular humana a través del PLAGH (Cuba, Colombia, Chile). En este mismo tipo de actividades fue apoyado el Primer Encuentro Latinoamericano de Bioética y el Genoma Humano en Manzanillo, Colima, México. Un resultado exitoso en este campo fue la organización de la Red Iberoamericana de Bioética y el Genoma Humano.

A pesar de que América Latina trabaja en pequeños grupos y tiene un bajo nivel de apoyo de sus gobiernos, y por otro lado, no existe una clara separación entre la genética clásica y la genética molecular y la investigación médica (McKusik, 1992), se espera que con el desarrollo de estas conferencias y otras actividades pueda incorporarse y beneficiarse del "Proyecto Genoma Humano". En 1993 para determinar la contribución de los genetistas de América Latina en la comprensión del genoma humano, fueron examinados los registros de la décima edición (1992) del "Catálogo de McKusick, de la herencia mendeliana en el hombre<sup>1</sup>" (Figuera *et al*, 1993). Se seleccionaron los genetistas que eran conocidos por los autores o que tenían apellidos comunes en América Latina, contando únicamente la primera serie de autores, se identificaron 228 citas de 93 genetistas, 47 de las cuales están relacionadas con estudios de características mendelianas, descritas exclusivamente en la región. En una revisión adicional de la literatura, se encontraron 10 entidades de genética para América Latina que no estaban incluidas en el catálogo.

En 1995 se inició la publicación de un boletín (Gaceta del PLAGH) que sale cada 4 meses la cual continua a la fecha gracias al apoyo de la Universidad de Auvergne en Clermont-Ferrand (Francia). En ésta el profesor Paul Male ha estado ofreciendo entrenamiento de citogenética molecular a cinco citogenetistas latinoamericanos con financiamiento de transporte y alojamiento.

### **El Proyecto Genoma Humano (México)**

En 1993, se celebró en México una reunión del "Programa Latinoamericano del Genoma Humano" en la que participaron muchos genetistas mexicanos y de otros países de Latinoamérica, así como científicos europeos y norteamericanos y un año después el 7 de junio de 1994 la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) realizó un taller sobre las oportunidades y problemas de las investigaciones del genoma humano, en el que participaron investigadores mexicanos y norteamericanos. En las discusiones, se resaltó la importancia que tiene para México y se analizó la posibilidad de participar en el proyecto internacional sobre el genoma humano, considerando los recursos humanos y materiales que se tienen en disciplinas como la genética y la biología molecular; el 28 de noviembre de 1994, el coordinador de la investigación científica de la UNAM, junto con un grupo de directores de las escuelas e institutos de investigación de la Universidad, autorizó el inicio

---

<sup>1</sup> The Mckusick Catalogue Mendelian Inheritance in Man.

de labores de planeación para la participación organizada de la institución en este proyecto, el cual quedo ubicado en el Programa Universitario de Investigación en Salud.

El "Proyecto Universitario del Genoma Humano<sup>1</sup>" está conformado por distintas dependencias de la UNAM y de la Secretaria de Salud (SSA), entre ellas, el Instituto de Investigaciones Biomédicas, la Facultad de Medicina, el Centro Médico "La Raza" del IMSS, el Centro de Investigación Biomédica de Occidente del IMSS en Guadalajara (las investigaciones de este centro las coordina el doctor José María Cantú, quien es presidente del Programa Latinoamericano del Genoma) y el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Nuevo León, Monterrey. Las investigaciones en la UNAM son coordinadas por el Dr. Antonio Velázquez Arellano, jefe de la Unidad de Genética de la Nutrición del Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIBM) de la UNAM, con sede en el Instituto Nacional de Pediatría de la SSA.

En las investigaciones en México también participan, los doctores Bulmaro Cisneros y Cecilia Montañés, realizando investigaciones en el área de diagnóstico molecular de enfermedades como la distrofia muscular de Duchenne, la distrofia miotónica y la hemofilia A entre otras, en las instalaciones del CINVESTAV del Instituto Politécnico Nacional (IPN) (Carrillo y Plaisant, 1997).

La participación de los investigadores mexicanos no solo será en el mapeo y secuenciación de genes, sino en el desarrollo de una infraestructura que permita identificar, aislar y caracterizar en forma precisa los genes que intervienen en distintas enfermedades, principalmente de aquellas que representan problemas de salud pública en el país, como son algunos tipos de diabetes y cánceres.

En el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Nuevo León, Monterrey se iniciaron los trabajos en 1992, estableciendo, un laboratorio de diagnóstico de DNA, destinado principalmente al estudio de genética molecular y epidemiológicos de varias enfermedades hereditarias, como la fibrosis cística, la distrofia muscular y la hemofilia, principalmente se practica la diagnosis molecular utilizando métodos indirectos tanto transferencias de Southern como PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) y por otro lado, se utiliza un método más directo (detección de mutaciones) utilizando RFLPs. Con los estudios se pueden detectar portadores de estas enfermedades hereditarias, así como también se pueden dar consejos genético y aumentar la información valiosa en el tipo y frecuencia de mutaciones asociadas a las enfermedades en nuestra región (Barrera *et al*, 1992).

Otro de los grupos de investigación en México, es el de la Doctora María Teresa Tusié Luna, investigadora de la Unidad de Genética de la Nutrición del IIBM. Este grupo se enfoca a estudiar la *Diabetes mellitus* no insulino-dependiente tipo II, (o Mody) en tres generaciones de 30 familias, con un total de 165 miembros, de los cuales 31 han sido afectados (16 mujeres y 15 varones). Este estudio es importante por la alta frecuencia de esta enfermedad en la población mexicana, que es de 6.8 por ciento, en tanto que una tercera parte de los mayores de 55 años la padecen. Este tipo de diabetes es una enfermedad poligénica y multifactorial, en la que probablemente más de dos genes están involucrados en su desarrollo, además genéticamente es heterogénea, esto significa, que distintas familias pueden tener diferentes combinaciones de genes alterados, resultando en un mismo cuadro

---

<sup>1</sup> <http://tztetza.dcaa.unam.mx/genoma/genoma.html>

clínico. Hasta el momento se sabe de la existencia de genes involucrados en el padecimiento, pero se desconoce cuántos y cuáles son<sup>1</sup>.

En el proyecto, también participan otras instituciones como el Instituto de Investigaciones Jurídicas, que tiene como finalidad investigar sobre la importancia de un manejo adecuado de la información genética.

En el campo de la Bioética participa el Dr. Rubén Lisker Yourkowitzky, miembro del Comité Internacional de Bioética de la UNESCO, quien también forma parte de la comisión científica designada por la Academia de Ciencias para el estudio de las implicaciones bioéticas del PGH y las investigaciones sobre clonación (Carrillo y Plaisant, 1997).

El proyecto universitario cuenta con el apoyo de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM. También participan los Institutos de Biotecnología, de Matemáticas Aplicadas y Sistemas y la Dirección General de Cómputo, así como el Instituto de Fisiología de la UNAM y el Centro de Nitrógeno con proyectos de genomas de bacterias y levaduras que pueden servir como organismo modelo.

---

<sup>1</sup> El grupo de la Dra. Tusié, utiliza la estrategia de análisis genético por ligamiento. El análisis genético por ligamiento, consiste en identificar los genes en un cromosoma, sobre todo los que causan enfermedad por medio de marcadores ya identificados. En el apéndice A se explica con más detalles.

## CAPITULO III

### El Proyecto

Como proyecto entendemos un conjunto de propuestas y metodologías empleadas para conseguir un objetivo. En el caso del Proyecto Genoma Humano se intenta conseguir un objetivo mapear y secuenciar el genoma humano. Sin embargo, debido a la complejidad del genoma humano y considerando las limitaciones técnicas y metodológicas actuales, el proyecto se ha fragmentado en programas nacionales y regionales a nivel mundial. En lugar de ser un proyecto delineado por un protocolo de investigación, se ha convertido en una "fiebre del oro" y en el peor de los casos en una "cazaria de genes" realizadas por parte de instituciones, laboratorios y centros involucrados en las investigaciones del genoma.

El Proyecto Genoma Humano costará aproximadamente de 3000 a 5000 millones de dólares; menos que otras iniciativas científicas como la estrategia de defensa nacional de los Estados Unidos que recibió en 1993 un presupuesto de 3800 millones de dólares, la estación espacial recibió 2100 millones dólares, los superconductores 517 millones de dólares en términos aproximados; mientras la designación para el Proyecto Genoma Humano en el mismo año fue de alrededor de 171 millones de dólares (Engel, 1993). También encontramos que se ha comparado este proyecto con otros grandes proyectos norteamericanos, como el proyecto Manhattan y el proyecto Apolo, sin embargo, tal comparación es equivocada, ya que mientras estos proyectos tenían claramente objetivos militares; el Proyecto Genoma Humano tiene otro objetivo, otro presupuesto, otra administración, una peculiar internacionalización y otras consecuencias (dependiendo del manejo de la información). Tanto las que ofrecen la oportunidad de un mundo más o menos mejor para todos, como las que podrían llevar a una mayor desigualdad social<sup>1</sup>.

En este capítulo, discutiremos los objetivos centrales del proyecto y algunos puntos que han provocado polémicas en distintas áreas de la actividad humana; discusiones que han ido desde cuestiones económicas y técnicas, hasta cuestiones políticas y éticas.

Cuando el proyecto empezó a surgir en la mente de algunos biólogos, parecía ser la motivación por la búsqueda de la verdad y del conocimiento del universo, de la misma forma en que hemos conocido la parte romántica de la ciencia tradicional, *"podríamos secuenciar el genoma humano porque "está aquí" exactamente como exploramos el sistema solar porque "está aquí" o el mundo de los cuasares por que ellos "están aquí", en este caso se trata de la herencia biológica completa de nuestra especie* (Sinsheimer, 1990), Sinsheimer no fue el único biólogo que mostró este entusiasmo, entre otros también estuvo Walter Gilbert quien llegó a comparar la secuenciación del genoma humano como la *"búsqueda del Santo Grial de la genética"* (Lewin, 1986a; Gilbert, 1993). Sin embargo, ante este entusiasmo rebosante surgieron opiniones más mesuradas que estaban encaminadas a la secuenciación de genes como una herramienta de la práctica médica como por ejemplo, la opinión de Renato Dulbecco quien argumentaba, que un proyecto de tal magnitud podría ser una fuente importante de investigaciones para combatir el cáncer

---

<sup>1</sup> Kitcher Philip en su libro "The lives to come" (1996); hace una reflexión y delinea una imagen de un futuro posible, partiendo de la realidad actual, de las esperanzas y los temores de las investigaciones sobre el genoma humano.

(Dulbecco, 1986) y cuestiones relacionadas con la salud. Así como también la oportunidad que Charles De Lisi veía, de que el DOE ampliara sus investigaciones de las mutaciones provocadas por las radiaciones nucleares (principalmente de conflictos bélicos). Estas opiniones de interés médico fueron generalizándose entre la comunidad científica y médica; y de esta forma el proyecto que en su nacimiento pretendía una búsqueda de la verdad, pasaba a un terreno que no es exclusivo de la ciencia de este siglo, sino a una vieja hermandad entre la investigación y la práctica médica acompañada de un nuevo ingrediente, el sistema capitalista. Este cambio de tendencia hacia la práctica médica provocó discusiones en cuanto a la estrategia de investigación que más adelante discutiremos; a pesar de que el proyecto tenía una fuerte justificación médica, fue criticado por carecer de una base científica, hasta el extremo de ser considerado un proyecto que no era propiamente científico, ya que no aportaría nada nuevo al conocimiento, sino que parecía una empresa (principalmente para la comunidad científica japonesa) que debería ser realizada por técnicos (Swinbanks, 1991). En este sentido, una de las críticas más fuertes en contra del proyecto ha sido el análisis de Tauber y Sarkar, en el sentido de no tener una base científica sino más bien parece ser un oportunismo empresarial, "*el PGH es manejado por una tecnología oportunista, una combinación de avaricia y objetivos equivocados*" (Sarkar y Tauber, 1993). El proyecto como una empresa científica, lo discutiremos en el capítulo V.

## **Objetivos**

Los objetivos principales del Proyecto Genoma Humano son: Construir un mapa genético del genoma humano; para cuestiones prácticas. La construcción de un mapa genético significa localizar la posición que cada gen ocupa dentro de los 23 cromosomas (figuras 1 del apéndice A) y en segundo, obtener la secuencia completa de los 100 000 genes del ser humano lo que significa saber la secuencia base por base de entre 50 000 a 100 000 genes que constituyen el genoma humano. Desde el inicio del proyecto parte de la comunidad científica de los Estados Unidos se mostró seriamente escéptica ante la validez del gran objetivo de la secuenciación completa del genoma humano, y condenaron los procedimientos y las promesas usadas para la obtención de fondos (Davis, 1992). Ante este objetivo demasiado ostentoso, la crítica más fuerte está encaminada hacia el cuestionamiento de que si en realidad, la secuencia obtenida, representará la secuencia de la especie humana, en el sentido de que si sera una secuencia "tipo". Actualmente es difícil concluir en que una sólo secuencia genómica pueda representar "el genoma de la especie", debido principalmente al polimorfismo genético y a la variabilidad (Sarkar y Tauber, 1993). El proyecto, a pesar de sus limitaciones, puede colocarse en un nivel más modesto en el consenso de que la información puede tener utilidad principalmente en el campo de la medicina.

Los conceptos de mapa y secuencia, los cuales parecen ser conceptos inocentes ha llevado a la reflexión a humanistas, filósofos, bioéticos, médicos, y científicos, preocupados e interesados por el manejo de la información que más adelante detallaremos, así como también ha llevado a la tentación a empresarios e industriales por la obtención de ganancias económicas. Estas situaciones nos plantean necesariamente, las siguientes discusiones.

## Estrategias de investigación

Después de establecerse el proyecto a pesar de sus críticos, se enfrentó con un problema en el intento de cumplir sus objetivos. Este problema fue, ¿Cómo abordar la investigación?, pensando principalmente en los recursos, tanto económicos como humanos. Desde el inicio, se dio una fuerte discusión en relación a la estrategia de investigación que se utilizaría. Actualmente sigue cuestionándose cuál de esas estrategias, es la adecuada.

En los Estados Unidos desde el inicio del proyecto, se discutió la estrategia de investigación, motivados por los gastos económicos. El NIH abogaba por una secuenciación completa, de toda la información hereditaria, y en este sentido el intento de hacer una secuenciación total, representaba una estrategia para abordar el problema. Esta posición, fue y sigue siendo duramente criticada principalmente porque el enfoque, para muchos críticos está mal planteado, piensan que la secuenciación a gran escala es un trabajo a ciegas y lo han cuestionado de manera sistemática (Sarkar y Tauber, 1993), principalmente porque lleva a gastos innecesarios. El problema en cierta forma, está condicionado por cuestiones económicas, y es un hecho que ilustra bien, como en la actividad científica actual, los intereses económicos están sobre los objetivos románticos de la ciencia. Asimismo es irónico cuestionar duramente esta estrategia, en el intento de conocer nuestro genoma, cuando sabemos que el mundo moderno gasta grandes cantidades de dinero con fines militares, principalmente en los Estados Unidos.

Mientras el NIH abogaba por una secuenciación completa, el DOE propuso hacer primero los diferentes mapas genéticos, (Ver apéndice A), para tener una localización aproximada de los genes, principalmente de genes importantes que después podrían secuenciarse. Esta estrategia, a pesar de cara, daría resultados más efectivos en cuanto a la comprensión de genes relacionados con enfermedades genéticas.

Para conciliar estas posiciones, debido al convencimiento por parte de algunos biólogos moleculares y ante la noticia de que los japoneses estaban creando máquinas secuenciadoras de alta velocidad, se convenció al congreso norteamericano para autorizar y destinar presupuesto al PGH. La posición conciliadora, incluía las dos estrategias, el mapeo de genes y la secuenciación completa; sugiriendo que el trabajo se hiciera en dos partes, los mapas primero y la secuenciación después. Actualmente (1998) los mapas genéticos están casi completos.

La tercera estrategia de investigación, para ir comprendiendo el genoma humano y reducir los costos de la investigación, es el mapeo y secuenciación del DNA complementario. Esta estrategia es empleada por Canadá y Europa principalmente, ya que representa menos gastos económicos y se obtienen resultados más específicos, debido a que su propuesta es trabajar primero con genes que se identifican como importantes en las funciones metabólicas o que están relacionados con enfermedades genéticas.

Una cuarta estrategia, para la comprensión del genoma, es la que emplean los países en vías de desarrollo; en estos países, las investigaciones se centran en el mapeo, análisis y secuenciación de genes responsables de enfermedades comunes en sus regiones, a partir del análisis de árboles genealógicos familiares.

El proyecto, como una empresa internacional, busca la integración de la información obtenida a partir de las diferentes estrategias.

## Comercialización

Un segundo elemento de discusión, que creemos conveniente incluir y que está involucrado en las investigaciones es la comercialización. La biología molecular ha mostrado un desarrollo casi lineal (Gros, 1992, 1993), desde el descubrimiento de la molécula del DNA realizado en 1953 por Watson y Crick, especialmente en la década de 1953-1963. Este avance, que generalmente se nos ha presentado como un afán por conocer nuestro universo, también puede verse como parte de la historia de la tecnología y como la necesidad de dominar la naturaleza (Sanmartín, 1987). De esta forma, la ciencia moderna puede irremediablemente unirse a la historia del capitalismo. Por otro lado, la práctica médica ha condicionado la búsqueda de conocimiento médico, primero con plantas y animales medicinales y ya en este siglo con biomoléculas y genes. Sin embargo, a diferencia de los antiguos métodos de adquisición de conocimientos, la investigación moderna tiene un nuevo ingrediente, la fuerte tendencia a la comercialización del conocimiento que se va obteniendo. Tomando este marco de referencia, es claro ver que el desarrollo de la biología molecular, como de algunas otras áreas científicas, ha estado apoyada fuertemente por el empuje capitalista en la búsqueda de aplicación práctica del conocimiento, entendiéndose lo práctico como ganancia económica.

Podemos darnos cuenta que el Proyecto en cuestión se nos presenta como descendiente único de las investigaciones en biología molecular (como lo expusimos brevemente en el primer capítulo). Todos esos avances en la ingeniería genética, proporcionaron las bases para que surgiera el PGH; pero también podemos darnos cuenta que social e históricamente hay otras condiciones que lo han hecho posible. Si analizamos un poco estas causas, podremos vislumbrar un poco cuales podrían ser las consecuencias o el futuro de la información obtenida por el PGH. Sabemos que una de estas causas, es la fuerte presión económica de las investigaciones modernas y la marcada participación de industrias biotecnológicas en las investigaciones del PGH, una participación que hizo surgir un problema que aún no puede resolverse formalmente, el problema de patentar genes que más adelante abordaremos. El proyecto, desde sus inicios, ha estado impulsado principalmente por la ideología capitalista que ha llevado a la biología molecular a tomar la delantera en las áreas de la biología moderna.

Los propios investigadores se han visto envueltos en tendencias empresariales como Walter Gilbert quien intentó buscar la creación de su propia empresa, o Craig Venter quien abandonó los laboratorios del NIH (Lindley, 1992) para dirigir una empresa de capital privado<sup>1</sup>. De igual forma, muchos países integrantes del Proyecto Genoma Humano, se dieron cuenta de que quedarían rezagados en el plano biotecnológico y en la clara desventaja comercial de no entrar al proyecto.

Un proyecto de enorme trascendencia como es el PGH, difícilmente puede decirse que sea "investigación científica neutra"; sin embargo, es pertinente aclarar que esa ideología capitalista ha dado buenos frutos y que sin duda proporcionará información que será valiosa, a pesar de que la preocupación por el tiempo y por los fondos económicos están marcados por la inquietud de la rápida comercialización, tanto de secuencias

---

<sup>1</sup> The Institute For Genome Research.

importantes como la obtención de patentes de secuencias y de productos farmacéuticos obtenidos con la información de dichas secuencias.

## **Presupuesto**

Las investigaciones sobre el genoma humano sin duda daran beneficios económicos, pero, ¿Serán en principio para quienes proporcionan los fondos y presupuestos destinados a la investigación?

Walter Gilbert frente a un auditorio en la conferencia de Cold Spring Harbor sobre el genoma humano, expresaba que el costo de secuenciar el genoma humano completo base por base (pb) sería de un dólar por cada par de bases y secuenciar 3000 millones de pares de bases costaría 3000 millones de dólares. Sin embargo, contemplaba que el mejoramiento en las técnicas bajarían los costos. Después de casi 8 años y en la segunda etapa de las investigaciones los costos no han bajado. Por otra parte también se pensó (posición duramente defendida por Watson) que si el proyecto se hacía en cooperación con varios países, los costos se reducirían considerablemente para cada país participante. Este programa que actualmente se ha convertido en realidad, nos plantea un problema; un proyecto de cooperación internacional, nos hace suponer que no será exclusivo de un país, (a pesar de que la estructura y la forma parecen mostrar que es exclusivamente de los Estados Unidos). ¿De quién es el proyecto? Un análisis de cada una de las posibles consecuencias o fines del proyecto sin considerar de quién es el proyecto carece un poco de sentido, señalamos esto porque por un lado, la respuesta hace más interesante el análisis, y por otro pueden justificarse mejor algunas posiciones sobre otras. En el ambito capitalista en que se desenvuelven las investigaciones, la respuesta necesaria deberá ser que el proyecto es de quién aporta el financiamiento, en estas líneas discutiremos quién o quiénes aportan presupuesto, y qué posturas toman en la defensa de la propiedad de la información, así como también quiénes serán los mejores beneficiados.

El costo del mapeo y de la secuenciación del genoma humano será aportado principalmente por presupuesto público, tanto en los países desarrollados como en los países en vías de desarrollo y en menor grado la iniciativa privada. Antes de que se iniciara el proyecto surgieron alguna objeciones, en torno a que si el estado debería sostener una investigación de este tipo, principalmente por la estrategia de secuenciar todo sin conocerlo. Por otro lado, el temor de muchos biólogos en Estados Unidos era descuidar otras líneas de investigación, debido al apoyo del PGH, entendiéndose el "descuido" como una desviación de fondos, además de que se pretendía centralizar la investigación en lugar de mantenerla descentralizada (Davis, 1992).

También se argumentó que el proyecto sería demasiado costoso y que podría traer poco beneficio médico a la sociedad.

A pesar de estas objeciones los gobiernos participantes decidieron dar sus aportaciones, muchas de las instituciones participantes, son instituciones públicas que trabajan con presupuestos públicos. Considerando esta información, podemos hilar la relación de los fondos con el proyecto y darnos cuenta, cómo a partir de investigaciones financiadas en gran parte con presupuesto público, tienen una tendencia a beneficiar empresas comerciales.



Muchas discusiones se centran en el destino de fondos para investigaciones que "se menciona no tendrán ningún beneficio médico para la sociedad". Sin embargo, en esencia la discusión no debería ser sobre la investigación, sino en la mejor forma de su distribución de la información. Gracias al amarillismo de la prensa, la mala distribución y mal manejo que en ocasiones se da de la información científica, amplios sectores de la población en muchos países, percibe a la ciencia, como una empresa a la que se le deben restringir fondos económicos. Las investigaciones del PGH se han visto envueltas en muchas discusiones de este tipo. Algunos oponentes motivados por las investigaciones biotecnológicas de los setenta<sup>1</sup>, intentaron oponerse a las investigaciones. La polémica, sentimos debe centrarse en cómo hacer llegar los beneficios de los avances científicos a toda la población; y creemos que la búsqueda de esos mecanismos debe de formar parte de los protocolos de proyectos de investigaciones financiados con presupuesto público.

Hemos mencionado que el proyecto es internacional; cada país participante aporta fondos, tanto del presupuesto público como de empresas privadas. Desde luego, el presupuesto de ningún país se asemeja al presupuesto norteamericano, el cual también está respaldado con fondos públicos y privados. Ante esto cabe preguntar ¿Es el proyecto exclusivo de la comunidad integrada por los países participantes y de las empresas farmacéuticas? ¿Está el proyecto planteado como una finalidad para el beneficio médico de la sociedad, o quedará sólo como una herramienta utilitarista de la hermandad capitalista internacional?. Entre esta hermandad capitalista han surgido diferencias por el asunto de patentar genes humanos. Ante esta situación los países que intentan integrarse al proyecto, con unas cuantas secuencias de genes como México, y otros países en vías de desarrollo, ¿Podrán participar de los beneficios del proyecto, una vez que éste haya terminado?, la esperanza es que el beneficio médico sea para todos y que el PGH no sea otro ejemplo desafortunado de inversión pública cosechada por la industria privada.

## Patentes

El problema de las patentes, es una muestra de la fuerte influencia comercial en el Proyecto Genoma Humano; muchas empresas han suscrito acuerdos llamados CRADA<sup>2</sup> con institutos nacionales como el NIH; dichas empresas financian parte de las investigaciones académicas a cambio de derechos sobre las patentes. Estas relaciones de sociedades de investigación genética y empresas farmacéuticas han aumentado alrededor del mundo y han llevado a desacuerdos entre los países participantes (Dodet, 1994).

Actualmente se registran y se enumeran en las oficinas de patentes de países desarrollados, células, plasmodios y organismos modificados genéticamente; ante este fenómeno de patentes relacionados con seres vivos, sectas religiosas, asociaciones protectoras de animales, y otras asociaciones han calificado de inmoral, el fenómeno de patentar organismos. Este mismo sentimiento se da en relación con las intenciones de patentar genes, situación que es considerada en extremo como inmoral. La pregunta central en esta polémica es, ¿Se debe permitir que se patentes las secuencias humanas?.

---

<sup>1</sup> Cuando se empezó a hacer investigación con bacterias y se pensaba que podían escaparse de los laboratorios y acabar con poblaciones enteras.

<sup>2</sup> Collaborative Research and Development Agreements.

Ante este problema, el Proyecto Genoma Humano ha abierto un campo extenso a bioéticos, legistas y científicos y desde luego a empresarios que discuten y retoman viejos temas como el de la naturaleza humana. Hasta 1991 no había mucha preocupación por patentar genes humanos. Sin embargo, el 20 de junio de 1991 Craig Venter investigador del NIH solicitó la patente de 337 fragmentos de DNA<sup>1</sup> de genes humanos, eran secuencias de DNAC, que había secuenciado con secuenciadoras automáticas del NIH (Anderson, 1991). Dichas secuencias formaban parte de más de 600 clones de DNAC cerebral. Las 337 secuencias representan nuevos genes (de los cuales se desconocía su función biológica y no se conocía la secuencia correcta de genes individuales), 48 de ellas presentaban similitudes con genes de otros organismos (Adams, 1991). Ante esta situación, la primera discusión en torno a 337 secuencias parciales del genoma humano se realizó entre expertos en patentes y la industria biotecnológica, la discusión se dió sobre si las secuencias eran patentables. Después de un debate acalorado la resolución fue que la patente para genes fue negada (Anderson y Aldhous 1992). Por otro lado, el NIH fue acusado por el Medical Research Council (MRC) por su intento de patentar genes, y plantear políticas de manejo al acceso de las secuencias del mismo tipo de fragmentos de genes que ellos habían conseguido (Leslie, 1991c). Francia también protestó por esto. Ante esta situación y debido a que el esquema de patente podría desalentar la transferencia de tecnología e inhibir el intercambio científico (Leslie, 1991c) se plantean nuevos problemas: cómo se protegería el interés económico de cada nación, en la cosecha de los beneficios del proyecto y cómo se aseguraría el intercambio abierto de la información científica. Por otro lado, a nivel nacional creaba un problema entre la investigación y la profesión académica, entre el investigador que trabaja para una empresa y que al mismo tiempo tiene que enseñar sobre los avances de sus investigaciones.

La situación de las patentes, pusieron en medio de un dilema al jefe del Proyecto James Watson, quien fue acusado de plantear el proyecto como una empresa comercial, y de verse envuelto en alegatos con las firmas comerciales, Amgen Inc. y Du Pont Merck Pharmaceuticals. Sin embargo, Watson argumentó que esa intención sólo era una trampa que se le había tendido para que renunciara al proyecto, ya que él mantenía serias diferencias con sus jefes, principalmente con Bernardine Healy directora del NIH quien estaba de acuerdo en patentar genes identificados por investigadores del NIH<sup>2</sup>, además de que tenía intenciones de encarrilar una compañía de secuenciación de genes, sugerida por Frederick Bourke, un rico empresario norteamericano<sup>3</sup>. Finalmente Watson renunció ante los conflictos por cuestiones económicas de varias compañías biotecnológicas, interesadas en beneficiarse del proyecto y por su desacuerdo con Healy, sobre patentar secuencias de DNAC. Este fue el desacuerdo más aparente con miembros de la comunidad del genoma, Watson defendía que la secuencias de DNAC no debía patentarse, por que para muchas de ellas se desconoce cual es su papel biológico. La polémica que llevó a renunciar a Watson en 1992, se había iniciado cuando Craig Venter intentó patentar las secuencias de genes obtenidas en laboratorios del NIH. Francis Collins, quien después ocupó el lugar de Watson, se mostró confiado en que se diera una buena resolución a los problemas de las

---

<sup>1</sup> Eran fragmentos conocidos como, Expression Sequence Tags (ESTs)(Ver apéndice A).

<sup>2</sup> (Leslie, 1992a; Marx, 1993).

<sup>3</sup> (Anderson, 1992b; 1992c; Anderson y Aldhous, 1992).

patentes, además señalaba que no ponía ninguna objeción a la idea de obtener patentes de genes con funciones biológicas importantes (Anderson, 1992a; 1992c; Marx, 1993).

Otros investigadores, como por ejemplo, Renato Dulbecco uno de los primeros entusiastas del proyecto, sostiene que las investigaciones en ingeniería genética son costosas, por lo tanto la posibilidad de obtener patentes es una condición necesaria para el laboratorio que consiga la secuencia (Dulbecco y Chaberge, 1989). Por otro lado, señala que la salida de productos al mercado no se traduce en un abaratamiento de los precios al público, debido a que las empresas tienen que amortizar el inmenso esfuerzo financiero para conseguir ese producto. Sin embargo, muchos de esos laboratorios utilizan recursos públicos, por lo que ha creado un serio problema a la oficina de patentes que tiene que poner una solución a los reclamos de patentes, ya que por un lado las firmas biotecnológicas entusiasmadas en la caza de nuevos genes y fragmentos de DNA, han hecho inundar tanto a la oficina de patentes como a la oficina de marcas comerciales con muchos reclamos de secuencias de DNA. Ante esta situación, la oficina ha puesto condiciones que obligarán a las compañías a buscar la patente, sólo de sus mejores datos (Bentley, 1996).

Otra propuesta es la de darle a las patentes una vigencia de 20 años (como se hace actualmente con muchas biomoléculas) período en el cual la empresa puede recuperar su inversión económica. Sin embargo, ninguna propuesta de patentes solucionaría la insistencia de la necesidad de libre y rápida circulación de la información de las secuencias (Curien, 1991; Bentley, 1996); esto requiere desde luego la creación de bases de datos de fácil acceso que puedan ser continuamente actualizados y consultados por los laboratorios interesados alrededor del mundo. De esta forma, las patentes podrían perjudicar tanto a los científicos, como a la ciencia médica y consecuentemente al "beneficio público" si se opta por patentar el conocimiento del genoma humano. Esto por otro lado, podría aumentar costos y repercutir fuertemente en las investigaciones de países con economías frágiles, a pesar de los esfuerzos de la UNESCO para integrar a países en vías de desarrollo al proyecto internacional. Para solucionar estos graves problemas de intercambio de información entre los diferentes países desarrollados y países en vías de desarrollo, Francia, Inglaterra y Japón lanzaron en 1992 una propuesta para un tratado internacional que prohíba las patentes (Anderson, 1992d).

En la primera Conferencia Norte-Sur del genoma humano (1992) en la que estuvieron presentes Craig Venter, Walter Bodmer y Nancy Wexler se discutió y analizó el problema de la patente de secuencias del genoma humano, en esa ocasión se tomó una resolución y se elaboró una declaración importante de que las secuencias como tal, no deberían ser patentadas. Considerando, que la información, tiene un potencial enorme para mejorar la salud de la humanidad, y que podría ser positivo que estuviera en posesión de todos.

En la Conferencia Internacional sobre Estrategia para la Secuenciación del Genoma Humano realizada en febrero de 1996, se discutió sobre la protección comercial de las empresas, sin llegar a ninguna resolución, se aceptó ampliamente que no se permitiera patentar genes sin conocer sus funciones, y se mantuvo que la información libre asegura la competencia y el desarrollo por ejemplo, de agentes terapéuticos y otros avances, por lo que en la conferencia se proclamaba por una competencia sana para obtener mejores avances que naturalmente se conseguirán evitando las patentes de genes (Bentley, 1996).

Finalmente, el Acta de Patentes de los Estados Unidos, autoriza la protección para patentes de *"algún proceso nuevo, máquina, manufactura o composición de materia"* (Einseberg, 1997). Para que esta reglamentación tenga efecto se requiere que la invención sea útil, nueva y que no se encuentre dentro de las publicaciones o de otras patentes. Desde esta perspectiva, para quienes pretenden patentar genes, ven a las secuencias de DNA como invenciones químicas; como grandes moléculas de DNA que pueden ser patentadas, de la misma forma como una composición de materia y bajo los mismos principios que las moléculas pequeñas. Para quitarle la propiedad de "producto natural" se argumenta que en la purificación y aislamiento de secuencia de DNA se utilizan vectores y células hospederas, todo ésto, da como resultado una nueva composición de materia. Por ejemplo, la secuencia del vector más la secuencia de gen y quedando como resultado de la intervención humana, lo cual es común con algunas moléculas como la adrenalina o la vitamina B-12 y el ácido acetilsalicílico. Sin embargo, la descripción de una pequeña secuencia de DNA o DNAc no es una invención, es una parte del mundo natural que existe independientemente de los científicos, lo que podría patentarse son los procedimientos, técnicas o aparatos, pero no la secuencia en sí (Curien, 1991).

### **Manejo de la información**

Otro de los asuntos fundamentales del PGH es la creciente preocupación por el manejo de la información obtenida en el proyecto, problema que se presenta principalmente con el incremento en el número de técnicas de pruebas genéticas para detectar enfermedades y para otras características biológicas humanas. El problema lo plantearé señalando primero la forma en que se ha propuesto abordar esta cuestión y posteriormente los puntos en los que el manejo de la información se convierte en un tema delicado, debido a los riesgos que existen ante el manejo inadecuado de mapas y secuencias de genes. Como señala Tom Wilkie en el libro *"El conocimiento peligroso"* (1993). *"la información puede representar un medio de poder, explotado por los grupos dominantes"*.

Ante este temor justificado, ha surgido un aspecto interesante y nuevo en un proyecto de investigación, se podrán estudiar los problemas que surjan en el manejo de la información en forma paralela a la investigación misma. Esta idea de realizar un estudio de las cuestiones Éticas Sociales y Políticas del PGH fue concebida primero por el NIH y posteriormente fue adoptado por el DOE, igualmente por los programas de los países participantes.

### **ELSI<sup>1</sup> (Cuestiones Éticas, Legales y Sociales)**

Como ya lo mencionamos el Proyecto Genoma Humano está proporcionando una gran cantidad de información genética significativamente valiosa, esta información promete avances tanto en la diagnosis, como en la prevención y en un futuro más lejano en la terapia génica. Al mismo tiempo, el nuevo conocimiento puede intensificar problemas actuales y complejos relacionados con valores éticos: la historia demuestra que la información genética puede ser mal utilizada como lo señalaremos en el próximo capítulo. Por ello el

---

<sup>1</sup>. Ethical, Legals and Social Issues.

NIH y el DOE han reconocido la necesidad de prepararse para el impacto social del PGH y han creado como parte integral del proyecto, el programa ELSI para estudios de cuestiones éticas, legales y sociales del proyecto. Para este programa el NIH aporta el 5% de su presupuesto y el Departamento de Energía el 3 %. (Marshall, 1997).

EL PGH, el programa ELSI se centrado su atención , sobre todo, en estudios sociales y educativos. así como en el establecimiento de talleres para aconsejar a agencias patrocinadoras y ofrecer consejos al Congreso Norteamericano. También tiene como objetivo, determinar posibles centros donde pueda realizarse algún tipo de discriminación, tales como compañías aseguradoras, empresas, agencias gubernamentales, instituciones educativas, instituciones militares etc., para evaluar la naturaleza de esa discriminación, así como comprender si la discriminación es por ignorancia o por algún planteamiento político.

El programa ELSI tiene un apoyo federal, y ha sido impulsado por la propia comunidad científica. Tradicionalmente la comunidad científica se han centrado en las investigaciones y ha dejado que la sociedad interprete y use los resultados como se desee. En este caso se espera que los problemas que origine este tipo de información, puedan ser anticipados y discutirse adecuadamente, principalmente algunos aspectos como, la privacidad de la información genética, protección a la discriminación basada en la genética; y la búsqueda de un mecanismo para vigilar la introducción segura de pruebas genéticas dentro de la práctica médica, en donde se espera que el PGH tenga un mayor impacto (Haq, 1993).

El taller grupal de ELSI, que al inicio estuvo a cargo de Nancy Wexler, quien ha dicho que la información genética en sí misma no daña al público, sino lo que podría dañarlo es el manejo inadecuado de la información; ha identificado cuatro objetivos prioritarios para su estudio (Engel; 1993; Haq, 1993).

I. Justicia. En el contexto de la genética, la justicia significa evitar la discriminación de individuos basada en sus secuencias de DNA, por parte de compañías aseguradoras y empresas, sin considerar el polimorfismo genético. Este problema de discriminación injustificada puede en principio resolverse con la legislación.

II. Privacidad. La privacidad significa que exista un control individual de la generación y revelación de la información genética; para evitar abusos de empresas y compañías de seguros.

III. Regulación de la distribución en instituciones de salud. La responsabilidad ética de no divulgar la información genética, por parte de personas e instituciones como médicos y laboratorios que generan esta información..

IV. Educación. La educación significa estimular las políticas de desarrollo profesional de biólogos, cuidadores de la salud y científicos sociales, (con el objetivo de que exista la disponibilidad de personas entrenadas adecuadamente para administrar e interpretar las pruebas genéticas), principalmente en el desarrollo de la práctica médica, para introducir con responsabilidad nuevas pruebas genéticas, así como también al público en general para que llegue a darse cuenta del nuevo conocimiento y de los problemas y oportunidades que representa.

El programa ELSI, que fue planteado por Watson como una ocurrencia, actualmente es el programa de bioética más grande del mundo y ha llegado a representar "*la conciencia del programa genoma*" (Marshall, 1996). De 1991 a 1995 ELSI ha fundado más de 125 proyectos que resultaron en más de 150 artículos y libros publicados, han cubierto un amplio rango incluyendo una serie televisiva pública. En genética ha editado un libro por Leroy Hood y Daniel Kevles (*The Code of Codes*, 1993), que contiene material educativo, estudios de patentes y genética, investigaciones en cómo educar a los maestros y decenas de estudios de pruebas genéticas. Uno de los proyectos más novedosos ha sido un ambicioso estudio, sobre el intento de introducir las nuevas pruebas genéticas con fines médicos; el objetivo es examinar los riesgos y beneficios de pruebas para detectar genes susceptibles del cáncer del colon y mama. El proyecto es conducido por 7 investigadores en los Estados Unidos y se ha centrado en ver el impacto social y psicológico de las pruebas genéticas. A pesar de que se esperaba que las pruebas tuvieran una gran demanda, en realidad pocas personas han mostrado interés en tomarlas (Marshall, 1996).

ELSI se ha pronunciado y ha recomendado al Congreso, que una persona que tenga una prueba positiva para un gen de una enfermedad genética, pueda ser visto bajo la ley como alguien que tiene una incapacidad, y sea protegido contra la discriminación.

### **Empresas aseguradoras y empleo**

El PGH ( y otras investigaciones genéticas) tiene ante todo objetivos científicos que pueden no ser positivos para los seres humanos, dependiendo de los usos que se hagan de él, un mal manejo de la información puede causar discriminación genética, que como sabemos es un fenómeno que se percibe con demasiada frecuencia (Lapham *et al.*, 1996). Por su parte ELSI mantiene una seria preocupación por el uso de la información en las empresas y aseguradoras, para ello ha creado líneas de investigación en la búsqueda y creación de políticas públicas en la aplicación de pruebas genéticas (Engel, 1993). En este sentido surge el problema de abusos por parte de una empresa o aseguradora de aceptar o negar empleo o seguro a una persona cuya prueba genética revela información que pudiera estar relacionada con enfermedades graves aunque finalmente esas enfermedades no se desarrollaran.

Los avances de la genética humana han resultado en la expansión de las pruebas genéticas; estas pruebas son capaces de proporcionar información sobre portación de enfermedades incluyendo riesgos de discapacidad o muerte prematura, además de qué estas pruebas pueden revelar información genética, no sólo de la salud individual sino también de otros miembros familiares. A principios de los setenta varias compañías aseguradoras, discriminaban a individuos portadores de anemia de células falciformes, aún cuando estaban completamente sanos. La cuestión central de la discriminación genética en las empresas y las aseguradoras ha llegado a ser un tema central, debido al avance del PGH. Todo lo relacionado a la confidencialidad y la privacidad relacionada a la información genética, ha tenido mayor prioridad para ELSI con el objetivo de conseguir una legislación específica, diseñada para proteger a las personas contra la discriminación genética, basada en el derecho de la libertad individual, por que nadie tiene derecho a conocer la secuencia de otro individuo y a actuar en base a esa información, sin tener clara la distinción, entre las implicaciones de la enfermedad genética "desarrollada" y las condiciones en que cada

persona es afectada, o la condición de ser únicamente portadora, así como la discriminación genética de individuos y familias debido a una clara o dudosa diferencia en su constitución genética.

### **Consideraciones legales**

Una preocupación fundamental al inicio de las investigaciones, era sobre quién reglamentaría el uso de la información. Sin duda reglamentar el uso de la información es una responsabilidad de la propia sociedad a través de sus representantes legales.

El reglamento de la información genética puede verse en dos niveles, el primero es la reglamentación de las investigaciones. En los últimos años ha surgido una preocupación, sobre las investigaciones en algunas disciplinas biológicas; podemos encontrar sus antecedentes en el código de Asilomar (Monte Palomar) en 1973, en el que se resaltó la preocupación por la recién iniciada ingeniería genética y se intentó regular sus investigaciones. En un segundo nivel, la legislación en cuanto al manejo de la información a nivel social. Estados Unidos ha sido pionero en legislar la aplicación de la información genética, seguido por Europa y recién iniciada por países en vías de desarrollo. La búsqueda de reglamentación de estas investigaciones está en aumento en la mayor parte de los países.

Desde 1975 hasta 1994 sólo se dió un proyecto de ley, que se presentó al Congreso de los Estados Unidos y está relacionado con la protección de los individuos respecto al uso de la información genética. En contraste, en 1995 fueron introducidos al Congreso norteamericano, por lo menos cinco proyectos. A partir de 1990 se han propuesto decenas de intentos a nivel estatal, para regular el uso de la información genética, principalmente dirigida hacia los seguros de salud. Actualmente aproximadamente 15 estados norteamericanos han promulgado leyes, algunos de estos estados son Maryland, North Carolina, New Jersey y California (Reilly *et al.*, 1997).

La ley federal más importantes en los Estado Unidos que implícitamente prohíben algunos tipos de discriminación genética, es el Decreto de Incapacidad Americano (ADA<sup>1</sup>) de 1990 (Bassford y Hauck, 1993).

Esta Ley prohíbe a los patrones prácticas discriminatorias. Empezó a tener efecto en julio de 1992 para compañías de 25 ó más empleados. A pesar de que esta ley protege a minusválidos con desórdenes genéticos, no proporciona protección a los portadores de éstos, quiénes podrían tener hijos que necesiten atención médica. El ADA no tiene previsto consejos regulatorios en la aplicabilidad para personas con genes para enfermedades latentes, por lo que es necesaria una extensión del decreto para cubrir a personas con predisposiciones genéticas. Una acción gubernamental importante en este sentido, se dio en 1995 cuando se lanzó la Comisión de Igualdad y Oportunidad de Empleo (EEOC<sup>2</sup>), la cual intenta proteger a las personas portadoras o susceptibles de presentar enfermedades genéticas. Por otro lado ELSI ha mandado varias recomendaciones al Congreso acerca de la necesidad de una protección legal contra la discriminación en el lugar de trabajo basada en un genotipo personal, así como para defenderlos ante el temor común de que las aseguradoras requieran pruebas genéticas, o puedan obtener los resultados de pruebas y

---

<sup>1</sup> The Americans with Disabilities Act.

<sup>2</sup> Equal Employment Opportunity Commission.

después negar la cobertura o cambiar la prima para aquéllos con enfermedades genéticas o propensos a ellas. Esta protección a los individuos puede también poner en desventaja a la aseguradora (si la hay), de que el cliente puede saber de una enfermedad genética y aumentar la compra de seguros de vida, lo que podría incrementar la demanda de reembolsos y de gastos de servicios de salud.

A pesar de que la información puede mantenerse entre el médico y el paciente, muchas personas creen que su registro genético podría ser obtenido por terceras personas.

Falta mucho por regular en lo que respecta a la información genética, principalmente en cuanto al uso por parte de aseguradoras, patrones y otras agencias gubernamentales. Algunos puntos importantes relacionados con las investigaciones e información genética que se podrían estudiar y legislar podrían ser: 1) descripción general de la naturaleza de estudios relacionados con investigaciones genéticas. 2) identificación y descripción de equipo de investigación. 3) directrices de privacidad para el estudio. 4) reglamentación de archivos 5) distribución y otros usos del DNA. 6) desarrollo de productos a partir del DNA de una persona con el interés de obtener una ganancia comercial y 7) regulación de otro tipo de información biológica (Reilly *et al*, 1997).

### **Práctica médica**

La medicina tradicionalmente se basa en la prevención, detección y cura de la enfermedad, y actualmente la medicina moderna está encaminada a enfrentar las enfermedades genéticas con la predicción, en especial las enfermedades hereditarias. Una de las promesas del PGH es mejorar la habilidad para comprender las enfermedades genéticas humanas y obtener conocimientos para tratar pacientes con anomalías genéticas. En este sentido existen ya, algunos tratamientos que mencionaremos más adelante. Existe la posibilidad de una futura terapia de genes que puede clasificarse en: terapia de genes de células somáticas (la intervención se hace directamente sobre células corporales, no afecta a la descendencia, únicamente al individuo sobre quien se aplica la terapia) que no encierra muchos problemas morales y la terapia de genes en células de línea germinal (esta se aplica directamente sobre células reproductivas, y afecta a la descendencia), la cual presenta cuestiones polémicas. Ambas alternativas aún son consideradas médicamente arriesgadas, debido a que la tecnología, no está al nivel teórico. Existen muchos problemas para introducir, eliminar o cambiar genes.

A pesar de que es en la medicina, donde se pueden aportar mejores beneficios, el Proyecto Genoma Humano presenta quizás la mayor debilidad ante sus críticos, principalmente cuando se ve al proyecto como una empresa que busca el beneficio de la humanidad, en este sentido se ve al PGH como "*una incompreensión médicamente irracional*" (Rechsteiner, 1991), ya que una política médicamente racional, procuraría curar las grandes enfermedades prevalecientes en la sociedad (a nivel internacional).



## Uso médico

Desde comienzos del siglo XX, la biología ha ganado influencia en la comprensión y entendimiento de las funciones vitales y ha demostrado tener una gran importancia, tanto en la genética humana como en la práctica médica (Löther, 1990). Razón por la que sabemos que uno de los usos fundamentales de la información obtenida del PGH será en la práctica médica, y es uno de los usos fundamentales que espera la comunidad científica internacional involucrada en el proyecto. El manejo de la información genética en la práctica médica presenta algunas limitaciones que analizaremos en tres breves consideraciones: I. La limitación en la aplicación del conocimiento, II. Los costos de la nueva medicina en la distribución y aplicación y III. La alternativa de cura que se ofrece. Antes de discutir estas consideraciones aclararemos el significado de las enfermedades genéticas.

### Las enfermedades genéticas

El conocimiento y comprensión de las enfermedades hereditarias, representan un campo fundamental dentro de la biología molecular, la cual permite la detección de los genes responsables de algunos padecimientos, posibilitando el diagnóstico prenatal o la detección de portadores de enfermedades, tanto recesivas ligadas al sexo. Por ejemplo los genes que determinan un tipo hereditario de ceguera, la hemofilia y el síndrome de FraX las cuales por lo normal se manifiesta en individuos de género masculino<sup>1</sup>, lo que significa que están localizados en el cromosoma X; así como las que se encuentran en los demás cromosomas. La investigación del genoma humano dará origen a nuevos métodos terapéuticos. De igual forma, permitirá conocer los factores de susceptibilidad a ciertos padecimientos y permitirá la práctica de una medicina preventiva, disminuyendo la frecuencia de muchas enfermedades. El área de la biología molecular está centrada de acuerdo a Gelehrte y Collins<sup>2</sup> en cuatro tipos de enfermedades que están relacionadas con alteraciones genómicas: I. Alteraciones monogénicas, II. Alteraciones poligénicas; III. Alteraciones cromosómicas y IV. Trastornos genéticos en células somáticas.

I). Alteraciones monogénicas. Ocurre cuando la alteración se debe a una mutación o mutaciones sobre un gen específico de una proteína o función, como el gen de la anemia falciforme: o como el gen de la enfermedad de la corea de Huntington, que se encontró en el cromosoma 4, que al parecer lo que provoca la enfermedad es el aumento en el número de secuencias repetitivas de CAG (citocina-adenina-guanina), mientras mayor es el número de repeticiones (más de 50) más severa es la enfermedad (Morell, 1993). Las personas con la enfermedad de Huntington, sufren daños nerviosos que causan una degeneración progresiva mental y física, iniciándose alrededor de los cincuenta años. Los síntomas de la enfermedad de Huntington, no aparecen hasta muy tarde en la vida, por lo tanto, la única forma de saber si un niño tendrá la enfermedad, es determinar si hereda la copia mutada del

---

<sup>1</sup> Muy pocos hombres con estos problemas tiene descendencia, las mujeres portadoras son poco frecuentes en la población, no obstante estas circunstancias se han encontrado casos raros de hemofilia A, en mujeres.

<sup>2</sup> (Gelehrter, Thomas D. and Collins Francis S (1990) Principles of Medical Genetics. Edit. Williams & Wilkin Baltimore U.S.A. pp 255-297).

gen HD (Huntington's Disease) o hereda la copia normal de los padres afectados (Keleher, 1993).

II). Alteraciones poligénicas. Cuando una enfermedad tiene como causa una anomalía en la interacción de varios genes, como algunas enfermedades mentales.

III). Alteraciones cromosómicas. Estas alteraciones ocurren a nivel de uno o más cromosomas como por ejemplo el síndrome de Down.

IV). Trastornos genéticos en células somáticas. Alteraciones que ocurren en las células del cuerpo, y se dan como resultado de la interacción de factores ambientales y predisposiciones genéticas. Uno de las más comunes son los diferentes tipos de cáncer. El cáncer resulta de uno o varios eventos genéticos en una célula somática. Algunas predisposiciones al cáncer se transmiten en línea germinal como el retinoblastoma que se localiza en el cromosoma 13, el gen de los pólipos adenomatosos, precursores del cáncer del colon que se localiza en el brazo largo del cromosoma 5, el cáncer de mama localizado en la banda 21 en el brazo largo del cromosoma 17. Sin embargo, en muchos de estos tipos de cánceres, la sola predisposición genética no basta, para desarrollar la enfermedad, sino que ocurre en combinación con interacciones ambientales.

### **Limitación en la aplicación del conocimiento**

El número conocido de genes relacionados a enfermedades y el número de genes candidatos a muchas otras enfermedades se incrementa, y hace necesario mejorar los métodos de exploración del DNA, la aplicación de este tipo de conocimiento que teóricamente es simple, en la práctica es muy compleja (Cotton, 1997), algunas de las razones son: 1) el número de laboratorios en el mundo donde hay secuenciadores expertos es muy limitado; 2) muchas aplicaciones requieren del análisis de cientos de genes de una sola enfermedad, debido a la existencia del polimorfismo en el genoma humano, y 3) la secuencia precisa consume tiempo y es cara. Estas razones llevan a desarrollar y afinar un gran número de métodos de exploración de DNA.

Otras de las limitaciones fundamentales de la utilidad de la información de mapas y secuencias en el área médica, es la comparación entre las secuencias de la población y la secuencia representativa del genoma humano. Puede resultar engañoso llamar a una sola secuencia o a un conjunto de secuencias como "normal"; un concepto que se considera que va más allá de la funcionalidad y que podría carecer de bases científicas. No existe en la actualidad nada que garantice que los mapas y secuencias obtenidas en el PGH representen una entidad específica que sea el genoma humano. Para Sarkar y Tauber (1991, 1992) no hay una forma adecuada para promediar las secuencias y proporcionar una secuencia representativa, debido al polimorfismo existente en el genoma humano, que analizamos con más detalle en el capítulo V. Sin embargo, se buscan los medios de encontrar una secuencia "tipo" y las herramientas conceptuales que nos den un modelo del genoma humano.

La tendencia de la nueva práctica médica, está enfocada a la predicción de enfermedades utilizando test o pruebas genéticas, ya que se prevé que habrá un amplio desarrollo de pruebas de diagnóstico de enfermedades genéticas que podrán estar disponibles. Actualmente, están siendo desarrolladas o están siendo usadas, por lo menos en investigaciones médicas, pruebas genéticas para enfermedades, como la fibrosis quística, cáncer de mama, cáncer del colon, y anemia de células falciformes (Marshall, 1996). La

pregunta es, ¿Cómo tener juicios concretos, basados en patrones y muestras que representan sólo una parte de un conjunto de posibilidades?. El tener el gen del cáncer de mama por ejemplo, sólo significa que el portador tiene una posibilidad entre el 5% y el 10% de padecer la enfermedad, dependiendo del tipo de mutantes; los mutantes conocidos que provocan el cáncer de mama BRCA 1 (Breast Cancer 1) y BRCA 2 (Breast Cancer 2), cuando se presentan juntos, juegan un papel únicamente de 2/3 de estas posibilidades. Esto quiere decir que ni aún teniendo los dos mutantes se puede predecir que un portador desarrollará la enfermedad. Los mecanismos de acción de los mutantes del cáncer de mama BRCA1 y BRCA2 son escasamente conocidas y por otro lado sabemos que un gen puede presentar cientos de variaciones (Kahn, 1996). Otro ejemplo, es el caso de la fibrosis quística, que presenta un comportamiento contrario a lo que uno podría pensar, por ejemplo una mutación puntual (cambio de una sola base) del gen provoca una enfermedad severa, dos cambios provocan una enfermedad regular y tres mutaciones puntuales, no muestran ningún síntoma.

En este sentido no hay ningún patrón general en el desarrollo de una enfermedad; para poder dar un consejo acertado y un diagnóstico adecuado, se deben tener un conocimiento claro, entrenamiento y generalmente se deben evaluar los casos de la familia en los que se conozcan sus variantes, severidad, y la frecuencia con la que se presenta. Algunas enfermedades no representan mayores problemas porque se han estudiado durante muchos años, pero son pocos los especialistas que pueden hacer predicciones correctas en cuanto a las enfermedades genéticas, y como lo señalamos anteriormente, una limitación fundamental en la aplicación de este tipo conocimiento es la carencia de especialistas.

Los médicos que practican actualmente, como los que practicarán después la nueva medicina molecular, deberán tener cursos y conocimientos sobre genética y ser cuidadosos en sus predicciones. Sabemos por ejemplo, que el método para diagnosticar una enfermedad, era en base a la presencia de marcadores en árboles genealógicos completos, (lo cual implica estudios completos de muchos individuos en una familia, durante varias generaciones, actividad que toma una buena cantidad de años) y sin embargo, este tipo de predicción no es muy confiable. Con el descubrimiento de los genes y su conocimiento podrán mejorarse los métodos de detección de enfermedades.

Finalmente, existe también una limitación económica, el acceso a este tipo de medicina incluso en los países mas desarrollados, representa únicamente para la predicción, una actividad demasiado cara.

### **Los costos de la nueva medicina y la distribución**

La revolución genética en el umbral del siglo XXI influirá profundamente en relación al hombre y sus enfermedades. Sin embargo, parece que estará marcada en dos formas. Primero, la práctica médica que se realizará en los países desarrollados, será diferente a la práctica médica que se espera en los países pobres. En los países pobres, en donde no siempre se pide apoyo internacional para las investigaciones biotecnológicas, hay un escaso apoyo gubernamental; para crear una infraestructura médica, las únicas oportunidades para éstos, son la cooperación internacional y una mayor importancia a la educación.

La medicina moderna además de sus avances espectaculares, también presenta precios espectaculares, por lo que nos plantea un par de preguntas que consideramos necesarias ¿Medicina para quién? ¿Qué parte de la población internacional será beneficiada con este proyecto internacional? A pesar de que la UNESCO y otras organizaciones muestran preocupación por la participación de países en vías de desarrollo en el proyecto, muchos de los cuales ya han planteado clara su participación; los beneficios sin duda (considerando la estructura del mundo actual) será para pobladores de países desarrollados principalmente y dentro de esa población el beneficio será para quien pueda pagar los altos costos de la medicina moderna.

Sin duda, los beneficios existen, pero esta promesa de la ciencia y de la medicina moderna aparece ante los pobres del mundo como la promesa bíblica de la tierra prometida, una promesa que parece demasiado lejos. Por ejemplo, una de las promesas al inicio de la biotecnología, era abaratar los costos de la producción de la insulina, después de 20 años la insulina se produce industrialmente, pero los precios para la mayoría de las personas que requieren insulina son excesivamente caros.

La Myriad Genetics Inc. de Salt Lake City ha sido una de las primeras compañías biotecnológicas en obtener una invención genómica para el mercado, llamada (BRCAAnalysis) que es capaz de mostrar mutaciones y genes susceptibles al cáncer de mama de los genes BRCA1 y BRCA2. Consiste en un análisis de secuencias de aproximadamente 165000 pares de bases y podría tener en el mercado precios de 2400 dólares (Marshall, 1997; Kahn, 1996), actualmente (marzo, 1997), que son alrededor de 20 000 pesos mexicanos. Resulta paradójico que mientras en algunas zonas de la tierra (en países industrializados) se intenta aplicar una medicina moderna digna del siglo XXI, en el tratamiento de enfermedades genéticas, en la mayor parte del planeta se recurre a la medicina de drogas y calmantes y en el peor de los casos a curanderos y brujos. Por otro lado, también resulta vergonzoso que a finales de un siglo que se glorifica de avances científicos y tecnológicos en muchas áreas y principalmente en la medicina, existan lugares de la tierra, donde los niños se mueren de hambre, como en Somalia o se mueren de diarrea como sucede en muchas zonas pobres de países en vías de desarrollo.

Está claro que los beneficios del genoma humano pueden darse, pero aún están demasiado lejos de un beneficio real de la humanidad, entendiendo la humanidad como el conjunto de todos los seres humanos que habitamos la tierra, por una desigualdad que no necesariamente surge de la ciencia o de la práctica médica, sino de las estructuras sociales que rigen la humanidad.

Otra limitación en la práctica médica es la distribución de la información. El desarrollo de la tecnología facilitará el acceso computarizado a los mapas genéticos, información que podría influir en la práctica médica y el conocimiento médico. Se ha mencionado que la información estará disponible para todo el público (tema que abordaremos en el capítulo V con el nombre de informática), sin embargo, existen algunas limitaciones implícitas en la divulgación de este tipo de información, como es la infraestructura necesaria para conectarse en la red y tener acceso a la información, además de que aún no existe un acuerdo en la secuencia promedio. Algunos de estos problemas de la distribución de la información están ligados a cuestiones comerciales que aún no se han definido formalmente.

## Tratamiento de enfermedades genéticas (alternativas de cura)

Los diagnósticos de enfermedades hereditarias pueden hacerse tanto en una etapa prenatal como en otras etapas de la vida del individuo. En cuanto a la primera opción, la posibilidad es erradicar enfermedades hereditarias, evitando el nacimiento del niño (aborto terapéutico), debido a que no hay un tratamiento adecuado. Con una estrategia así, podrían eliminarse una gran cantidad de enfermedades hereditarias. Sin embargo, el aborto es un tema que como sabemos es muy discutido y rechazado en nuestra sociedad. Esta predicción prenatal y la opción del aborto, que finalmente debe ser una elección de parejas, no representa un alternativa de cura, sino una eliminación sistemática de posibles enfermos. Los procedimientos de diagnóstico prenatal requieren de conocimientos de genética mendeliana, genética molecular y una interpretación adecuada de la información genética<sup>1</sup>.

Por otro lado, la cura de enfermedades genéticas resulta en la actualidad difícil. En el futuro existe la posibilidad de disponerse de una terapia génica en células somáticas y posteriormente terapia génica en células germinales, esta última cuestión ha levantado muchas controversias a pesar de que en la actualidad existen limitaciones técnicas (en el siguiente capítulo discutiremos un tema relacionado con la terapia de genes, el cual representa un tema muy polémico).

Algunas enfermedades genéticas representan serios problemas como por ejemplo la enfermedad de Huntington de la que se conocen las causas. Sin embargo, falta conocer como actúa en las células nerviosas y lo que es más importante como curar la enfermedad.

Las investigaciones incrementarán el conocimiento del número de genes que causan enfermedades hereditarias; de igual forma el acceso a la secuencia podrá mejorar la capacidad para definir las causas precisas del defecto molecular que causa la enfermedad y determinar las bases patofisiológicas. Tales conocimientos podrían facilitar la habilidad para diseñar el tratamiento; el cual podría ir, desde el diseño de mejores agentes farmacológicos, síntesis exógena y deliberada de un producto de gen hasta la introducción de una forma normal del gen dentro de un paciente afectado (terapia de genes). El potencial para tales avances terapéuticos podría ser mejorado con el desarrollo de organismos modelo, que podrían mejorar la habilidad para estudiar los procesos relevantes de enfermedades en animales, donde las intervenciones farmacológicas y protocolos de terapia de genes pueden ser fácilmente probadas y permitidas.

Mientras se perfeccionan nuevas técnicas para enfrentar las enfermedades genéticas, existen algunos tratamientos, que incluyen manipulación externa, más que manipulación genética. Tratamientos como la restricción, reemplazamiento y remoción de acuerdo a Gelehrter y Collins (1990). Existen algunas proteínas terapéuticas, drogas novedosas, y terapia génica limitada a una actividad de investigación. Actualmente existen alrededor de 60 proteínas recombinantes para tratamientos clínicos.

**Restricción.** La dieta es una parte importante de los tratamientos de varias enfermedades metabólicas, por ejemplo la restricción al consumo de la fenilalanina, puede prevenir el desarrollo profundo de retardo mental, la restricción del consumo de proteínas en individuos con defectos de ciclos de urea, dietas para evitar el colesterol o restricción a drogas o toxinas, etc.

---

<sup>1</sup> Para un análisis del tema, vease: Ayala J. F. (1994) La naturaleza inacabada. Salvat. Madrid, España.

Reemplazamiento. El reemplazamiento de productos deficientes o un órgano puede ser terapéutico y curativo, por ejemplo en la hemofilia el reemplazamiento del factor VIII ha sido una terapia útil en la gran mayoría de pacientes, el trasplante de órganos ha sido utilizado como una medida terapéutica, como el trasplante de riñones en la cistinosis (en la cual el riñón se daña por la acumulación de cisteína intercelular), puede corregir los severos problemas asociados con esa enfermedad. Sin embargo, existe el riesgo de rechazo de órganos, así como también en los xenotrasplantes<sup>1</sup>, existen riesgos de contraer enfermedades infecciosas.

Removimiento. El removimiento de sustancia o de órganos también ha sido útil. La plebotomía para remover el hierro en la hemocromatosis puede adecuadamente prevenir el daño progresivo al hígado, corazón, páncreas y otros órganos. Estas técnicas a menudo incluyen la aplicación de sustancias bioquímicas. Hasta el momento sólo se han tratado enfermedades de un sólo gen, lo cual como vemos presenta problemas y éstos aumentan cuando se enfrenta a enfermedades poligénicas.

Desde luego no todas las intervenciones a nivel molecular necesitan ser modeladas con los logros del pasado. Otras posibilidades no deberían estar más allá de nuestra imaginación, si pensamos que pueden existir muchas mas posibilidades ( Kitcher, 1996).

---

<sup>1</sup> trasplante de órganos de animales, en el hombre.

## Asesoría psicológica

Nancy Wexler ha señalado que en las investigaciones y aplicación de pruebas genéticas, surgen problemas emocionales en las personas con respuesta positiva a determinadas enfermedades hereditarias, sobre todo cuando no hay una garantía de curación de la enfermedad, por lo que piensa que se deben considerar seriamente los efectos psicosociales (Bassford, 1993), ya que la vida puede resultar diferente con una continua ansiedad y temor a la muerte. Antes de aplicar las pruebas se deben considerar, los efectos en el empleo, en la seguridad y los ajustes emocionales. Esta situación plantea la necesidad de crear una área destinada a la asesoría psicológica de las personas que decidan optar por pruebas genéticas. En la actualidad no se cuenta con un programa de asesoramiento psicológico para las personas que presentan genes defectuosos y que de pronto se les notifique que están irremediablemente condenados a morir de una enfermedad genética, cuando las técnicas preventivas sean confiables al 100%. Podrán hacerse diagnósticos confiables, pero ¿Qué pasará con el tratamiento? ¿Será posible tener el remedio?.

Por otro lado, hay otra alternativa que se presenta como asesoría genética para ayudar a parejas en la etapa de reproducción. Sin embargo, esta situación podría llevarnos a una situación de eugenesia positiva (menos drástica) o eugenesia negativa (drástica). El primer tipo puede ser adecuado, cuando se sabe con certeza que una persona desarrollará una enfermedad y la selección del aborto se hace con el fin de evitar padecimientos graves en una persona. La eugenesia negativa puede darse, cuando la opción del aborto se hace tratando de eliminar una característica indeseable, que no necesariamente lleve a un padecimiento grave.

Sobre la desición de las practicas eugenésicas Kitcher (1996), señala cuatro tipos de desiciones: la primera es ingeniería eugenésica en la cual se selecciona un grupo de personas con características determinadas que podrian jugar un papel importante en generaciones futuras. Segunda, las parejas tienen que determinar sus propias desiciones reproductivas, independientemente de cual es la opinion del médico y cual es la política estatal impuesta. Tercero, las personas tienen que decidir si desean aumentar o disminuir la frecuencia de ciertas características y finalmente las persona deben decir hasta que punto pueden confiar en la información científica para tomar sus desiciones finales.

## CAPITULO IV

### Influencia del PGH en la sociedad

En el capítulo anterior, señalamos algunos problema que trae el uso de la información que aportará el PGH. En este capítulo, mencionamos problemas que no son tan inmediatos, pero que en un futuro podrían influir en la forma de entender y comprender la naturaleza del hombre, y por lo tanto plantear problemas que tengan un impacto social. La información del genoma humano ha llamado la atención en algunos aspectos filosóficos y religiosos, tales como naturaleza humana, comportamiento, libertad moral y responsabilidad; sin duda se intentará buscar nuevos conceptos teológicos o filosóficos para asegurar la protección de la libertad personal.

Uno de estos problemas se origina, cuando la información biológica es extrapolada del plano científico a los fenómenos sociales, y surgen riesgos de manejo inadecuado de la información, en programas políticos y sociales. Una segunda cuestión, es la manipulación de genes humanos la cual está relacionada con los valores éticos y morales. En un tercer apartado indicamos la necesidad de una mayor educación de las cuestiones del genoma humano, que ha sido planteada como una alternativa a la solución de muchos problemas como los que se mencionan en este capítulo y en el anterior.

### Extrapolación del conocimiento biológico, control social, eugenesia y racismo

La eugenesia es un problema no fácil de resolver y en relación a este asunto existen alguno trabajos que discuten ampliamente este problema<sup>1</sup>. Francis Galton, el fundador de la eugenesia, consiguió atraer la atención pública por su propuesta de un sistema de selección de los más dotados, mediante casamientos promovidos por el estado, con el fin de engendrar seres excepcionales; sus ideas llevaron a la formación de la Sociedad Americana de Eugenesia en 1926 y a la implementación de programas de sanidad pública. La ideología racista que presentaba razas genéticamente nobles y razas genéticamente viles no fue un caso aislado. Sin embargo, sus mayores efectos fueron en los territorios coloniales europeos, en Europa ( Inglaterra y Alemania) y en los Estados Unidos. Una de sus peores formas fue la que caracterizó a la ideología del fascismo y que acabó en una discriminación y persecución racial y en un genocidio.

La pregunta es, ¿Qué tan lejos estamos de controles de natalidad, con fines eugenésicos?, o como dice Kitcher (1996) *¿Estamos en el comienzo de una profunda aventura inmoral o estamos revirtiendo a los demonios del pasado eugenésico?*.

Actualmente se da la conservación de espermias ultracongelados, de donantes considerados genéticamente valiosos y la inseminación artificial, métodos comprobados en zootecnia y finalmente la reproducción clonal que se ha discutido fuertemente. Los

---

<sup>1</sup> D. Kevles (1985) *In the name of eugenics*. New York: Knopf.

P. Kitcher (1985) *Vaulting ambition: sociobiology and the quest for human genome*. The Massachusetts Institute of Technology. Presenta un argumento en contra de la sociobiología, definida por O. Wilson como la disciplina que estudia la base genética del comportamiento. Estudios que han estado estrechamente ligados a programas eugenésicos.

R. Proctor (1988) *Racial Hygiene: Medicine Under The Nazis* Cambridge, Mass.:Harvard.



gobiernos de los Estados Unidos y el Reino Unido han prohibido que se realicen este tipo de investigaciones con fondos públicos. Sin embargo, no se han restringido las investigaciones financiada con fondos privados. A pesar de que tecnológicamente todavía no es posible, existe la tentación hacia la aplicación de procedimientos destinados a modificar voluntariamente el sustrato genético humano.

Actualmente los conocimientos emanados de la biología molecular han empezado a influir en cuestiones sociales; por ejemplo, encontramos la aplicación de un racismo discreto, basado en la información genética, en algunos países como Inglaterra, donde el test genético sirve para clasificar a los inmigrantes (Dulbecco y Chaberge, 1989). De igual forma existe el racismo académico surgido desde finales de los setenta y que ha vuelto a aparecer sobre todo en Estados Unidos e Inglaterra, por medio de interpretaciones de los resultados de test de inteligencia y de otros datos psicométricos que abusan del vocabulario de la genética (Löther, 1990).

Existe un riesgo de discriminación al usar los pruebas genéticas, basados sólo por diferencias percibidas del genoma normal, en la constitución genética de un individuo. La fuerza aérea norteamericana, por ejemplo prohibió a los heterocigotos con células de anemia falciforme (que presentan una anormalidad en su composición sanguínea, pero pueden llevar una vida normal), a ser pilotos, por la creencia de que esas personas podrían tener problemas en altitudes muy elevadas (Bishop, 1992); cuando sabemos que el oxígeno y la presión están controlados.

La carencia de conocimientos sobre el comportamiento de los genes, ha llevado a un reduccionismo genético, el cual encierra la idea de que los genes predominan sobre el ambiente. Esta posición lleva al conservadurismo político y a una denigración de la importancia social y cultural para manejar problemas como el alcoholismo y la pobreza, mostrando el riesgo de un reduccionismo del ser humano a una mera secuencia de cuatro dígitos (Sarkar y Tauber, 1992). Luria ha señalado, que existe el riesgo de convertir, lo que fue el programa nazi para erradicar judíos y otros tipos de genes de poblaciones consideradas como inferiores, mediante el exterminio en masa, en un programa más blando, pensado para perfeccionar a los seres humanos, corrigiendo sus genomas conforme a un genotipo ideal (Bishop, 1992; p. 364).

Finalmente, el hecho de que se dedique una gran cantidad de investigaciones especializadas (incluidas cuestiones genéticas humanas) de carácter antropológico, a la constitución biológica del hombre y de las poblaciones humanas en todas sus fases evolutivas, no implica, ni hay ninguna razón para la transposición de los conocimientos y teorías establecidas en el terreno de la sociología (Jahn, 1990).

Las investigaciones del genoma humano proporcionarán una gran cantidad de información sobre la naturaleza química y física del ser humano, y como ya mencionamos puede plantearnos la oportunidad de crear si no un mundo feliz, un mundo mejor para todos, pero al mismo tiempo puede llevarnos a mayores desigualdades sociales o en el peor de los casos a nuevos programas eugenésicos o bien a una situación que esperemos tengan una probabilidad muy remota, de desarrollar la escalofriante y descabellada idea de crear "un mundo feliz" como lo ha descrito Aldous Huxley, basada en la selección y clasificación de una sociedad por su naturaleza genética.

## Los límites de la manipulación genética y la terapia génica

Este tema no tendrá repercusiones inmediatas, sin embargo la manipulación genética en seres humanos representa una preocupación en el campo de la ética y la moral. La tecnología necesaria podría surgir de las investigaciones del genoma. De todos los adelantos de la genética humana, la terapia génica es la que despierta más temores, a pesar de que las expectativas actuales de la terapia génica son muy limitadas. Sustituir un gen defectuoso por uno bueno, es una de las maneras lógicas de combatir una enfermedad genética. Esto parece mostrar temores morales, a pesar de que algunas de las cuestiones son comunes en la práctica médica. En la terapia génica somática (se realiza en células corporales, y no afecta a la descendencia) se crean modificaciones semejantes a los trasplantes de órganos, y su licitud no ofrece problemas morales. Mientras, se ha rechazado al menos de momento la terapia en la línea germinal (se realiza en células germinales, y si afecta en forma directa a la descendencia).

La palabra manipulación viene del latín (*manipulare*) y quiere decir manejar con las manos y por extensión se entiende, manejar cualquier objeto sin necesidad de que las manos intervengan directamente. El ser humano desde su nacimiento como especie y tal vez un poco antes, ha manipulado objetos como palos y piedras; y posteriormente utensilios hechos por él mismo, hasta llegar a manipular átomos y sustancias subatómicas. En este largo camino de manipulación de objetos se ha topado con algo sagrado, el cadáver humano. En cierta forma superó esta etapa. Sin embargo, nuevamente la ciencia moderna nos ha dado la oportunidad de manipular un objeto fundamental, la molécula de la vida, el DNA. Las primeras ocasiones que los hombres de ciencia manipularon genes, fue al inicio de la ingeniería genética. Actualmente, se ha desarrollado tanto esta área de investigación que el *Homo sapiens* se ha convertido en un manipulador de genes (Newell, 1990). Los seres humanos ya ha manipulado genes de microorganismo, plantas, animales y algunos genes humanos, y ahora su intención apunta hacia la futura manipulación de genes humanos, tanto de células somáticas como germinales, con la esperanza de establecer medidas terapéuticas.

Por otro lado, estas investigaciones se encuentran en la mira de grupos que están en contra de tendencias eugenésicas y en el centro de discusiones éticas y morales relacionadas con la intimidad de la naturaleza humana.

Encontramos que el hombre en esa libertad de manipular que tiene, ha tropezado con los genes de células germinales humanas. Este tema delicado y difícil, lo plantearemos con esta pregunta: ¿Tenemos el derecho, la libertad o la calidad moral para modificar la naturaleza genética de la especie humana?. La pregunta está directamente relacionada con la naturaleza del cuerpo humano. Podemos darnos cuenta que esta pregunta contemporánea y propia del siglo XX, sin duda será centro de fuertes discusiones en el siglo XXI; hace recordar viejas polémicas sobre la naturaleza del cuerpo humano, principalmente polémicas sobre la manipulación de cadáveres humanos.

El problema moderno al que nos enfrentamos presenta una diferencia fundamental, el objeto sobre el que se manipulan los genes, está vivo. ¿Qué tiene de especial la manipulación de genes humanos?, ¿Qué problemas presenta y por qué resulta ser un tema difícil y polémico?, ¿Qué problemas implica, en cuanto al intercambio, eliminación o inserción de genes dentro del genoma humano?. Una de las mayores preocupaciones en este terreno es que existe la posibilidad de alterar el genoma humano (Lee, 1994).

Por un lado, tenemos que la terapia génica somática crea modificaciones permanentes en el cuerpo, su licitud no ofrece reservas morales en virtud de los beneficios del paciente; esta terapia incluye la inserción de genes buenos en células de tejido dañados o también incluye la posibilidad de despertar genes apagados, lo que podrá ser una alternativa en el futuro. La terapia de genes de células somáticas se refiere a la inserción de nuevo material de DNA en un tejido particular, en tal caso no entra en la línea celular germinal y no se trasmite de generación en generación. Por otro, en cuanto a la terapia de células germinales, un tipo de terapia que lleva a discusiones éticas, hay un consenso en que no debería estar destinada a usarse en seres humanos, sobre todo la referida al embrión en una fase temprana, que presenta aspectos delicados. Las técnicas de terapias, han podido hacerse exitosamente en plantas y animales, obteniendo organismos transgénicos.

La experimentación de inserciones celulares y la terapia de células somáticas y germinales, presenta limitaciones, sobre todo de carácter técnico, por lo que su uso está restringido a experimentos. En algunos países, existe la alternativa de experimentar la terapia de células somáticas con voluntarios que padecen enfermedades terminales, práctica que se hace en los Estados Unidos (Haq, 1993).

El problema fundamental como ya señalamos, reside en la manipulación de genes de células germinales y en la manipulación de embriones, debido a que las alteraciones se transmiten a las siguientes generaciones.

"Manipulación de genes y embriones humanos", leer o escuchar esto, suena de una forma esquizofrénica, espeluznante y al mismo tiempo tentador. La biología moderna ha desarrollado tanto la ingeniería genética, que la manipulación de genes y embriones humanos se encuentra permanentemente en el foco de la tentación, con la continua intención de tratar las enfermedades humanas, como en su tiempo ocurrió con la manipulación de cadáveres. Ante el desarrollo de las técnicas y el avance sobre el estudio del genoma, se ha presentado como un sueño para muchos médicos y genetistas, poder insertar un gen normal dentro del tejido apropiado de un individuo afectado con algún desorden genético (Gelehrter y Collins, 1990).

La manipulación de genes en células germinales, ha sido considerada como medicamento innecesaria. En lugar de insertar genes normales en el huevo fertilizado, esto supone por supuesto que el proceso de fertilización se realiza en el laboratorio, sería mucho más simple descartar los cigotos afectados (esto implica, desarrollar la tecnología para hacer un examen genético de la misma forma como se hacen actualmente los cariotipos) o implantar embriones que posean una copia normal del gen obtenido mediante la fertilización artificial (Lee, 1994). De esta forma la terapia génica en embriones, quedaría únicamente considerada como un medio futuro para la introducción de genes para aumentar características deseables y no como un medio curativo, ni como un medio de erradicación de enfermedades.

Mientras unos consideran innecesaria la manipulación de embriones, en algunos países como Estados Unidos, empieza a ser legalizada. En otros está prohibido y en la mayoría ni siquiera está contemplado en sus legislaciones.

A principios de los noventa se desarrolló un programa de investigación clínica en el continente europeo con el propósito de estudiar estas cuestiones. En enero de 1992 se fundó oficialmente el grupo europeo, dedicado a la transferencia de genes y a la terapia génica en

el hombre<sup>1</sup>. Esta asociación, dirige más de doscientos grupos que trabajan en el tema. el grupo trabaja con comisiones de la Comunidad Europea, encargadas de las investigaciones en biología y medicina, así como de la actividad farmacéutica. La colaboración también consiste en establecer líneas de conductas comunes sobre cuestiones de ética y seguridad, tanto para el paciente como para el medio ambiente en todas las fases de desarrollo de las técnicas de transferencia de genes con fines terapéuticos (Cohen *et al.* 1994). Sin embargo, ante el esfuerzo de alguna naciones por tratar de reglamentar las investigaciones en esta área, es necesario preguntarse si el mundo está listo para un tratado internacional, que regule las investigaciones del genoma humano, sobre todo, lo relacionado con la terapia génica.

En una conferencia realizada en el NIH en Bethesda Maryland en 1991, se consideró que la humanidad aún no está lista para la manipulación y terapia de genes. En esta conferencia, se manifestó la necesidad de un convenio internacional de ética del genoma, pero con opiniones bruscamente divididas. Peter Singer de la Universidad de Monash de Australia jefe de la recién formada Asociación Internacional de Bioética (formada aproximadamente por 25 naciones) cuestionaba el objetivo de lograr un tratado de ética del genoma, formado por muchas naciones, mientras existan grandes diferencias en la opinión ética de un país a otro (Aldhous, 1991a).

Estas diferencias son enormes; los congresistas alemanes sensibles a un posible resurgimiento de la política eugenésica nazi, votaron en 1990 para conceder selección de embriones exclusivamente por doble riesgo en el transcurso de severos desordenes genéticos ligados al sexo, tales como la distrofia muscular de Duchenne. Alemania, tiene prohibida la manipulación en línea germinal, por voto unánime del congreso. Otros países europeos tienen leyes menos estrictas en selección genética (Aldhous, 1991a). En estados Unidos está permitido manipular embriones, que tengan un límite de 8 días de desarrollo (Marshall, 1994; Coperias, 1995). En la gran Bretaña, han prohibido las investigaciones en línea germinal lo mismo que en Francia y Alemania; en Suecia se estableció que cualquier propuesta de terapia en línea germinal debería someterse a un estricto examen ético. Esto muestra, como la ética y la moral se flexibiliza, de la misma forma como se cedió ante la manipulación de cadáveres.

Actualmente, existen limitaciones técnicas en el manejo detallado de los genes, a pesar de que en las mismas líneas de investigación del PGH están desarrollándose las técnicas, que podrán traspasar esa barrera. El componente ético del Proyecto Genoma Humano, está destinado a desarrollar políticas por medio de conferencias y proyectos de investigaciones sociales para considerar las cuestiones relevantes y enfrentar esta problemática, así como también intenta incluir actividades para promover el interés público

Finalmente, puesto que no es posible bloquear nada "*como lo demuestra la memoria histórica, ni se pueden imponer moratorias, se teme que el prohibicionismo genérico no tenga lugar*" (Di Mauro, 1996). Lo que nos queda por hacer es desarrollar programas que regulen las líneas de investigación relacionadas con la terapia de genes, principalmente la terapia en línea germinal.

---

<sup>1</sup> European Working Group on Human Gene Transfer and Therapy.

## Preocupación educativa

La cuestión educativa, es una preocupación más de muchos investigadores involucrados en el Proyecto Genoma Humano (Engel, 1993), debido a que actualmente, el público no sólo de los países desarrollados, sino a nivel mundial tiene un conocimiento rudimentario de genética (y en muchos casos ni siquiera rudimentario); además, carece de medios para acceder al conocimiento y aprender más, por lo que prácticamente constituimos una sociedad científicamente analfabeta, a pesar de que el impacto social de la ciencias y de la tecnología es evidente. Sin embargo, lo que siempre interesa son los efectos prácticos de la investigación.

El problema de la educación genética refleja una deficiencia; por el fracaso para comunicar la naturaleza de esta información, la capacidad y las limitaciones de esta área científica, por otro lado, también el fracaso para demostrar las implicaciones personales y sociales del progreso de la medicina y de la tecnología.

Ya vimos que alrededor del proyecto hay muchos temas que han causado fuertes polémicas y que sin embargo, más que problemas éticos representan problemas educativos (Newell, 1990), como ocurre con muchas de las discusiones de genoterapia. Algunos críticos del proyecto sostienen que el público debe tener mayor voz en lo que los científicos hacen o les permiten hacer, alegando que debe haber una legislación específica (este tipo de legislación ha estado en vigor en el caso de los trasplantes de órganos y parece haber sido bien aceptado entre pacientes y médicos) que aborde los temas controvertidos o de riesgos. Sin embargo, no puede haber discusión con un público que no conoce los temas.

En este sentido, y para proporcionar herramientas adecuadas al público interesado, desde la creación del proyecto se delinearon esfuerzos de ELSI (capítulo anterior) que incluían algunos proyectos educativos, que podrían ser lanzados como programas para lograr una educación a diferentes niveles, para educar a un público mayor, a niños, a médicos y consejeros genéticos, al público en general, así como a quienes planean y determinan las leyes (Lander, 1996), creando programas televisivos de divulgación para informar a los ciudadanos, con el objetivo de tratar la carencia de la información pública acerca del PGH, y aumentar la comprensión de las cuestiones éticas sociales y legales, a través de talleres educativos para profesores de ciencia, y buscar una legislación adecuada para la protección de nuestra información genética.

En Estados Unidos, para cumplir esta intención de una educación a mayor escala, la Biological Science Curriculum Study (BSCS) y la American Medical Association (AMA) en cooperación con las comunidades de genética humana, desarrollaron un programa para mejorar las deficiencias de educación de los estudiantes y maestros de la escuela superior, acerca del Proyecto Genoma Humano. del programa titulado "Mapeo y Secuenciación del Genoma Humano: Ciencia Ética y Política Pública", apoyado por el DOE, resultó una distribución libre de un módulo de 94 páginas, para cada uno de los aproximadamente 50 000 profesores de biología de la escuela superior en los Estados Unidos. Esta publicación es interesante porque es un trabajo libre de derecho de autor, que puede copiarse y distribuirse para fines educativos (McInerney, 1993). La intención de este trabajo es explorar temas de genética humana, así como la naturaleza y la necesidad de analizar la relación entre el rápido progreso científico y tecnológico y sus efectos en la sociedad.

La ausencia de conocimientos en el área de la genética humana engendra generalmente incomprensión, pasión, temor, y muchas ideas distorsionadas acerca de la naturaleza de los seres humanos; esa naturaleza genética que nos hace diferentes, unos de otros, lleva generalmente a un racismo irracional, emanado de un mal entendimiento de esas diferencias genéticas, por lo que es necesario un enfoque educativo, que sienta las bases para una mejor comprensión del genoma humano. En este mismo sentido, existe la necesidad de aclarar la importancia de la interacción entre genes y ambiente para quitar del público la noción de determinismo genético (en el sentido de que generalmente se piensa que tanto, todas las enfermedades como el comportamiento son determinados por los genes), que como lo mencionamos en el apartado sobre el uso de la información (capítulo III), puede llevar a una discriminación injusta.

Existe la intención general de mejorar la comprensión de la variedad humana y reducir el miedo irracional que se tiene a la tecnología genética.

La mejor manera de evitar experimentos que atenten contra la vida humana, es tener un pueblo educado, con buenos principios éticos. Asuntos que finalmente no sólo son responsabilidad de padres y maestros, sino también de los medios de comunicación, que a veces actúan con sensacionalismo para vender la información; de dirigentes que toman las decisiones y de personas involucradas en la generación de este tipo conocimiento. Muchas publicaciones de los países participantes recomiendan la educación pública, como un medio para aumentar la participación ciudadana en forma efectiva, en la determinación de políticas que regulen por un lado, los proyectos como terapia de genes, clonación y en general todos los que tengan que ver con investigación del genoma humano; y por el otro, políticas que regulen el uso de la información.

## CAPITULO V

### Influencia del PGH en la ciencia

En esta parte señalaremos cuestiones que están estrechamente relacionadas con la práctica científica, que sin duda será beneficiada con la información del PGH. Los temas de este capítulo son: el proyecto como una empresa científica y su ideología; el problema del polimorfismo humano; la idea optimista de una mayor teorización de la biología; la integración de organismos modelo como herramienta alternativa a la complejidad de estudios y de investigación de fenómenos biológicos; la innovación de la informática, relacionada con el manejo de la gran cantidad de información obtenida por el PGH y su relación con la ciencia biológica moderna y finalmente, el entrenamiento de científicos jóvenes.

#### Empresa científica

En estos párrafos delinearemos brevemente al proyecto como una empresa científica, centrándonos en su modelo de investigación, el objetivo científico y su ideología. Se ha mencionado en ocasiones que el proyecto es consecuencia del propio avance de la ciencia, principalmente en el área de la biotecnología, la informática y algunas áreas de la física y de la química. inclusive puede ser visto como necesario.

El Proyecto Genoma Humano, tiene actualmente una participación científica mundial que rompe con los esquemas en la forma de hacer ciencia. La ciencia moderna tiene tres distintos tipos de manejo de la estructura de investigación de acuerdo a la interpretación Yager *et al*, (1992).; (1) muchas investigaciones son conducidas por grupos que tienen menos de diez miembros, un director principal que dirige los objetivos y esfuerzos de la investigación, (2) centros multidisciplinarios compuestos por 20-30 miembros, con diferentes centros científicos y ocasionalmente ingenieros; estos proyectos generalmente se centran en problemas de naturaleza tecnológica y, (3) la gran ciencia, que incluye la creación de un sólo y caro instrumento y se desarrolla en una localización y en un período de tiempo determinado.

EL PGH en su modelo de hacer ciencia para cumplir su objetivo científico, presenta un esquema que involucra a cientos de laboratorios y miles de personas alrededor del mundo, actualmente representa un modelo de investigación científica. A pesar de que en su origen fue propuesto por una comunidad muy reducida de científicos y médicos, inclusive, algunos críticos del proyecto han llegado a considerar que el impulso del proyecto, no fue a partir de la propia ciencia, sino una cuestión política llevada al congreso por el senador de New Mexico. Pete V. Domenici, quien era presidente en el senado del Subcomite del investigación y desarrollo de energía, buscando una participación fundamental del DOE, cuyos Laboratorios principales, Los Alamos; se encuentran en Nuevo México (Leder, 1990; Rechsteiner, 1991).

El objetivo científico es mapear y secuenciar el genoma humano. Sin embargo, a este objetivo se le ha cuestionado su carácter científico, ya que se piensa que no aportará ningún conocimiento esencial. "*Mapear y secuenciar el genoma puede no ser en sí mismo la formación de conocimiento biológico*" (Haq, 1993). Sería más que nada, la aplicación de

técnicas ya desarrolladas y no en el sentido de que se hagan avances conceptuales o se rompa conceptualmente con conocimientos que sostiene la biología, como en su tiempo lo hizo la teoría de Darwin, las leyes de Mendel o el propio descubrimiento de la doble hélice por Watson y Crick. De esta forma el PGH se ve como una estrategia científica mediocre (Rechsteiner, 1991), ya que la ciencia se ha caracterizado por hipótesis relevantes, probadas con diseños elegantes y realizando experimentos competitivos; visto de esta forma el PGH queda como una masiva colección de datos, además de que hay razones para esperar que la colección de datos no se consiga con precisión suficiente.

A pesar de estas críticas, el objetivo científico del proyecto puede en esencia ser incontrovertible. Si hay controversia se debe a su relación con la primacía y la ideología con la que se desarrollan las investigaciones (Lederberg, 1993).

El proyecto ha recibido críticas de acuerdo a Sarkar y Tauber (1993). *por carecer de una racionalidad científica, y presentar el reduccionismo, no sólo como método si no como ideología científica.* El reduccionismo como método ha sido la herramienta tradicional de la investigación de la biología molecular, disciplina que ha llegado a considerarse como la Revolución Biológica del siglo XX.

En su origen el reduccionismo fue declarado como un programa específico por fisiólogos alemanes en 1840, como un intento deliberado para desacreditar el vitalismo en biología, deseando establecer un dominio de la física y de la química, como las ciencias modelo para explicar los procesos orgánicos (Tauber, 1996). Actualmente el reduccionismo puede ser dividido en tres categorías: ontológico, metodológico y explicativo para Francisco Ayala (1983) o constitutivo, explicativo y teórico para Alfred Tauber (1996).

En relación al reduccionismo ontológico o constitutivo la cuestión estriba en si las entidades fisicoquímicas son la base de todos los fenómenos vivientes, no ser reduccionista en este nivel implicaría ser vitalista y pensar en un *élan vital*, entelequia o alguna fuerza inmaterial para explicar los fenómenos de la vida. El reduccionismo ontológico implica el que las leyes de la física y de la química se apliquen plenamente a los procesos biológicos a nivel de átomos y moléculas.

En cambio el reduccionismo metodológico o explicativo abarca cuestiones referentes a la estrategia de investigación y a la adquisición de conocimientos; en el intento de comprender el total se deben descomponer sus componentes, a menudo es útil en la guía de investigaciones para mecanismos o constituyentes de un procesos. El análisis bioquímico y la comprensión de los procesos metabólicos son un resultado positivo del reduccionismo metodológico. De igual forma a partir de los aspectos más reduccionistas de la investigación del DNA se ha llegado a comprender manifestaciones patológicas fundamentales para la medicina (Lederberg, 1993).

Por último, en el reduccionismo epistemológico o teórico la cuestión general radica, en si las teorías y leyes experimentales formuladas en un campo de la ciencia pueden considerarse casos especiales de teorías y leyes formuladas en algún otro campo científico; si tal es el caso, se dice que la primera rama de la ciencia ha sido reducida a la segunda (Ayala, 1983).

Podemos ver que hay varios usos del término reduccionismo. Sin embargo, para efectos de este trabajo podemos resaltar dos que resultan útiles, el reduccionismo como un método práctico y el reduccionismo como una visión ideológica. El primero como ya vimos resulta útil en las investigaciones de la biología molecular y el segundo es un tema que no



ha recibido mucha atención por parte de historiadores profesionales y filósofos. Los estudios principalmente se han centrado en la biología evolutiva con una carencia de enfoques filosóficos hacia la biología molecular, carencia que ha sido notable durante los debates que surgieron alrededor del Proyecto Genoma Humano y que apenas en dos conferencias celebradas en 1991 en Boston y 1993 en New York, se empezó a mostrar interés en la historia de la biología molecular desde una perspectiva filosófica (Sarkar, 1996).

Podemos ver que dos tipos de reduccionismo convergen para generar lo que llamamos la ideología del PGH, el primero es el reduccionismo metodológico, y el segundo el mismo tipo de reduccionismo convertido en una ideología como un "reduccionismo genético" en el intento de afirmar que todas las propiedades biológicas de un organismo pueden ser explicadas y ser determinadas únicamente por sus genes. De esta forma las explicaciones reduccionistas como un estrategia de investigación han sido transformadas en una ideología por los proponentes del PGH. El reduccionismo genético, que es una de las cuestiones más criticadas al PGH, queda únicamente como una herramienta de investigación para elucidar la organización de los genes en los cromosomas, ignorando la complejidad de la interacción de la herencia y el ambiente y la dificultad de separar las contribuciones relativas de cada uno (Sarkar y Tauber, 1993). Caben mencionar también "los cambios internos" es decir la propia combinación genética debido a interacciones entre genes, que consecuentemente provoca cambios en la acción de los genes.

Vemos que el dominio del paradigma del DNA, ha sido un triunfo de la interpretación mecanicista de la biología del siglo XX. Los éxitos en genética y biología molecular en años recientes han contribuido a provocar la tendencia en biología hacia el reduccionismo. Ante esta situación es común encontrar la confusión del reduccionismo como una táctica con el reduccionismo como una postura, la posición extrema sugiere que todas o muchas de las enfermedades y comportamiento humano puede ser atribuido a los genes. La biología molecular después de 1953 ha generado un ambiente en el cual el enfoque reduccionista, para un amplio rango de investigaciones, como el mejoramiento en las técnicas de secuenciación, el desarrollo del DNA recombinante, los sistemas de clonación y la manipulación de hospederos, lo han convertido en un enfoque genético infinitamente simple para un organismo incluyendo al ser humano. Sin embargo, acompañada de esa transformación de la biología, se ha llegado a una posición reduccionista extrema hacia la ciencia misma y hacia las aplicaciones sociales. El empleo del reduccionismo en la ciencia ha sido traducido en una visión metafísica. Algunos biólogos moleculares han dicho que todo los problemas biológicos son mejor enfocados con el estudio de los genes. Muchos dirigentes de la revolución en biología molecular han reivindicado todo papel explicativo para la genética y muchos de estos dirigentes están asociados con el inicio del PGH (Beckwith, 1996). En seguida mostramos algunas afirmaciones tomadas de Beckwith (1996) de los dirigentes del PGH que resumen su posición ideológica:

J. Watson " *antes pensábamos que nuestros de no estaba en las estrellas, ahora sabemos en gran medida que nuestro destino está en los genes*".

Norton Zinder llama la secuencia del genoma "*la piedra de la Roseta*".

Walter Gilbert llama a la información completa de la secuencia del genoma humano "*El Santo Grial de la genética humana*".

Robert Sinsheimer dice que *"la secuencia define un ser humano"*

Charles De Lisi, tituló un artículo sobre el genoma humano como *"el plan maestro de la vida"*.

Paul Berg cree que *"muchas enfermedades son claramente el resultado de mutaciones hereditarias"*.

Francis Collins, sugirió que probablemente *el PGH transformará la medicina del siglo XXI en un modo preventivo, donde las predisposiciones genéticas sean identificadas y tratadas antes de la enfermedad.*

Daniel Koshlan supone que *el PGH podría proporcionar soluciones a muchos de nuestros problemas sociales.*

Estas actitudes hacia el futuro de la biología y su impacto en los problemas sociales, refleja claramente la confusión del reduccionismo. El movimiento dentro de la biología centrándose en los genes como la base de todos los estudios biológicos es una visión "miope", existiendo un riesgo latente cuando esta visión pasa a problemas sociales.

No es posible dejar de lado la relación de los genes y los ambientes biológico y social en el que se expresan.

El reduccionismo del PGH destaca el nivel molecular a costa de todos los otros niveles. Sin embargo, no indica que con el tiempo, no se pueda obtener una comprensión reduccionista de los organismos; el hecho de que el reduccionismo biológico valga la pena depende del contexto científico, es decir, de que la investigación haya progresado lo suficiente para proporcionar comprensión mediante la reducción (Sarkar, 1992). La complejidad de un sistema hace imposible una explicación reduccionista, En este caso, por ejemplo, los procesos de las enfermedades ante múltiples factores ambientales o la susceptibilidad a ellas, así como la interacción de genes, se convierte en un sistema complejo, difícil de explicar. Estas razones lleva a pensar que en muchos casos, la información de la secuencias sólo está al inicio de las investigaciones (Lederberg, 1993).

### **Análisis e interpretación del genoma**

El interés en analizar e interpretar las secuencias se ha hecho evidente en la investigación del genoma humano, un interés que se desprende como una consecuencia inmediata de la ideología científica del Proyecto Genoma Humano. Tom Wilkie en su libro El experimento peligroso señala que *" la verdadera importancia del PGH podría consistir en culminar la revolución iniciada por Darwin y Mendel, en forma parecida a la revolución de la física iniciada por Copérnico, Kepler y Galileo en el siglo XVI y que su impacto sobre el resto de la sociedad, sobre la imagen que la humanidad tenía respecto a su posición en el cosmos no se hizo patente hasta después de Newton, quien abrió el campo a una nueva imagen de éste."*, En el sentido de que la interpretación de la información del genoma puede darnos una nueva imagen de la naturaleza humana.

Lo que directamente implica esto, es una búsqueda de una mayor teorización en la biología; Walter Gilbert en 1991 publicó en Nature un pequeño artículo titulado "Hacia un cambio de paradigma en la biología", en donde señala que el análisis del genoma podría ser

el inicio de una biología más teórica<sup>1</sup>. Señala que todos los genes serán conocidos, en el sentido de encontrarse disponibles en bases de datos electrónica, a través de redes alrededor del mundo, y que podría facilitar el análisis, *"quizás por un par de mentes brillantes que puedan darle una interpretación que nos presente, una nueva visión de la vida"* (Gilbert, 1991). En este sentido el nuevo paradigma implicaría una nueva forma de hacer biología.

El análisis que la comunidad internacional intenta, es a partir de la enorme cantidad de datos de secuencias que se obtendrán de la secuenciación a gran escala.

Esta intención de hacer una biología más teórica, no es nada novedoso y el tema ha sido tratado desde hace algunos años y acapara cada vez más el interés y la unanimidad sobre la existencia de una teoría global de la biología. Con el surgimiento del PGH, se ha planteado el hecho de que habrá mayores elementos para una biología más teórica. Consideraremos primero estos elementos y posteriormente las objeciones y limitaciones implícitas en la búsqueda de una mayor teorización en la biología.

Existen proyectos tanto en Estados Unidos, como en otros países europeos y Japón, destinados a la creación de una infraestructura en informática y en la búsqueda de parámetros de análisis. Por ejemplo, en Bari, Italia, el Dr. Saccone y colaboradores están interesados en reconocer el significado biológico de las secuencias, desde un punto de vista lingüístico y han desarrollado programas de computadora. Uno de los mayores intereses, es el análisis de correlación entre el diferente vocabulario adoptado por dos o más secuencias con el mismo papel biológico. Este enfoque puede ser útil para clasificar nuevas secuencias cuyo papel biológico sea desconocido. Estos métodos están siendo aplicados a mitocondrias de mamíferos y para algunas secuencias humanas. La aplicación del método lingüístico de esos datos puede ser un primer paso hacia la clasificación del vocabulario humano, de acuerdo a las diferentes tipos biológicos (Dulbecco, 1990).

En Japón, se estableció un programa del PGH, principalmente para la creación de herramientas de análisis del genoma.

En relación a este tema existen opiniones encontradas, algunas suaves como la de Watson, quien considera, que quizás dentro de mil años podamos empezar a interpretar las secuencias del DNA completo del genoma (Lee, 1994); posición parecida a la de Chargaff, quien piensa que aún no se está al final y que el intento de construir una imagen total en función de nuestros conocimientos actuales conduce al mayor pecado de la ciencia (Jahn, 1990).

Otras opiniones son más duras. Algunos críticos consideran que el Proyecto Genoma Humano será al final sólo una larga lista de bases de DNA, conseguida tras un arduo trabajo, y un costo excesivo, sin proporcionar más que un vistazo al fugaz mundo de los seres vivos, sobre todo cuando sabemos la dinámica que se da entre los seres vivos, con el cambio continuo e incesante de los genomas. Sarkar considera que sería engañarnos a nosotros mismos, el pensar que una vez que poseamos la secuencia comprenderemos todo el significado de la herencia de nuestra especie y que sólo representa prejuicios genetistas de principios de siglo el pretender ver a los organismos desde la perspectiva de sus genes (Sarkar y Tauber, 1993). Esto ha llevado a los humanistas a pensar que *"al llegar al momento de la interpretación, para tratar de comprender la naturaleza humana, en base a*

---

<sup>1</sup> usamos las palabras "biología más teórica", porque en realidad gran parte de las investigaciones biológicas tienen una carga teórica, pero aquí nos referimos a una biología que se aleja un poco de la experimentación.

*la interpretación de secuencias y pensar que tener la secuencia será una gran aventura en la biología humana y la llave para comprender de qué está hecho el ser humano, es caer en un reduccionismo totalme... absurdo y lleva la información del PGH a una estrategia de investigación radicalmente reduccionista" (Rosemberg, 1992).*

A pesar de que hay un gran consenso en analizar e interpretar el genoma humano, hay también un acuerdo respecto a la extraordinaria diferencia entre el nivel teórico y el grado de teorización en cada una de las diferentes áreas de la biología, que plantea una limitación infranqueable. Por ejemplo, parece implicar que cuando tengamos la secuencia de todos los genes de un organismo, tendremos virtualmente toda la información básica requerida para explicar el fenómeno biológico; sin embargo, el factor limitante no es únicamente conocer la estructura de los genes, sino también, la expresión de esos genes, la cuál varía en forma muy compleja, "el nuevo paradigma" podría ser dirigido no sólo por la estructura de los genes, sino también por la elucidación de la función integrada de genes, enzimas, membranas y metabolismo en el organismo completo (Pirt, 1991), por lo que resulta muy difícil una biología más integrativa, a partir de datos de secuencias. Estas consideraciones también representan una limitación científica criticada respecto al PGH como una empresa científica y como una herramienta hacia una biología más teórica.

La mayoría de los autores coinciden en que la vida se manifiesta en formas muy variadas y que puede ser analizada desde muchos puntos de vista de donde resulta una multiplicidad de teorías biológicas particulares. Por otra parte, también la mayoría coincide en que la mera adición de todas estas teorías no llega a constituir una biología más teórica por lo que parece difícil establecer una teoría de la biología o un andamiaje armónico de teorías biológicas. Algunos campos de la biología se han desarrollado diversamente en cuanto a su contenido teórico, como la biología molecular, la citología, la genética, la biología del desarrollo, la biología de la evolución y la ecología. Sin embargo, todas estas áreas muestran una disparidad de niveles, difícil de traspasar para alcanzar un desarrollo hacia una biología más teórica.

Intentar unificar los diferentes niveles en los que se mueven los seres vivos, si es que esto es posible, hará necesario buscar nuevos horizontes en la filosofía de la biología, así como enfoques metodológicos novedosos en el análisis e interpretación del genoma o del conjunto de genomas. Finalizamos esta parte, centrando la atención en la siguiente pregunta, ¿Es necesaria una integración o teoría global para entender y comprender los fenómenos biológicos?. La respuesta a esta pregunta es que en realidad no lo sabemos.

## Polimorfismo humano

El polimorfismo definido en forma simple es la diferencia genética entre un individuo y otro; por ejemplo, en el ser humano esa diferencia es del 0.1 al 1%. El polimorfismo no sólo se encuentra presente en el genoma humano sino en todos los organismos.

La carga genética de cada individuo es igual y única en todas las células que componen a un individuo. En la población humana existe una vasta diversidad genética, con miles de alelos en muchos *loci* genéticos, análogo a la huella dactilar, única de cada individuo y cuya aplicación puede ayudar a resolver o esclarecer delitos; en el caso del genoma humano, estas huellas dactilares únicas de cada individuo representarían como mencionamos en un principio el polimorfismo entre los seres humanos; así como en el caso de las huellas dactilares se ha estudiado esta diferencia entre individuos a través de patrones y medidas establecidas, en el caso del polimorfismo en el genoma humano, se han utilizado técnicas que se basan en la comparación de datos obtenidos de los mapas de restricción.

En el Proyecto Genoma Humano, el polimorfismo trajo consigo una serie de inquietudes y preguntas entre la comunidad científica. Una de las preguntas planteadas fue en torno al ideal de alcanzar una biología, en un sentido más integrativa. Así como la disponibilidad de mapas y secuencias patrones para usos médicos. Sin embargo, esta diferencia genética entre individuos de una misma especie, impide la estandarización de un mapa o secuencia patrón que pudiera aplicarse a cualquier individuo sin importar su historia étnica o geográfica y cuya aplicación sería más fácil para la práctica médica.

La presencia de este polimorfismo, hace difícil la comprensión y el conocimiento de información obtenida.

Para resolver un poco este problema se ha planteado el uso del polimorfismo para crear puntos de referencia en los mapas, es decir que se podría tomar ventaja de esta diferencia genética para desarrollar marcadores genéticos polimórficos, también llamados RFLPs, como resultado en la diferencia del tamaño de los fragmentos generados de la digestión con enzimas de restricción entre individuos. Estos marcadores de DNA polimórficos podrían ser usados junto con los análisis de coherencia en la localización de genes. Otro enfoque es crear una colección de catálogos de variantes comunes, que puedan transformar las investigaciones para genes susceptibles a través del uso de estudios asociados (Lander, 1996).

Debido a que uno de los objetivos importantes en el análisis del genoma humano es la determinación rápida de las variaciones y mutaciones en secuencias específicas entre individuos, es necesario desarrollar líneas de investigación para la creación de técnicas y aparatos de análisis de variación genética. Actualmente se han desarrollado algunos avances, entre estos está por ejemplo, un chip de un conjunto de DNA de alta densidad, que se ha usado para genes mitocondriales humanos (16.6 Kb). Una secuencia de largo L fue probada por hibridación para un conjunto que contenía cuatro sondas L de 15 oligonucleótidos. Las secuencias pueden ser leídas en minutos por comparación de la muestra (marcados con un solo tinte de color) el análisis polimórfico de secuencias podría ser posible con este nuevo enfoque. Por ejemplo, el conjunto de oligonucleótidos de alta densidad pueden ser utilizados para caracterizar el espectro de variación de secuencias en una población y puede ser aplicado al análisis de muchos genes en forma paralela; en el

caso de DNA humano pueden ser analizadas simultáneamente las regiones de control, los genes codificantes, y RNAt el método puede ser utilizado para identificar secuencias polimórficas. Este método para secuencias polimórficas puede detectar con una resolución de unas cuantas bases y una eficiencia sin precedentes (Chee *et al*, 1996).

Además de la transmisión de una mutación y de la acción de los genes, el estudio de la variación individual es uno de los principales objetivos de la genética. Sin la variación normal y patológica, la información del genoma humano no sería valiosa; Pero para esto se debe tomar en cuenta, el genoma del mayor número de poblaciones posibles. de lo contrario, las investigaciones quedarían centradas en el material biológico de los europeos y el resto de la humanidad estaría siendo ignorada, al mismo tiempo se deben manejar con cuidado los estudios en poblaciones nativas de diferentes regiones, evitando que las investigaciones sobre sus genoma, sean una explotación más del hombre blanco (Kahn, 1994).

La variación individual es una preocupación obvia y encierra dos problemas: El primero, plantea la importancia del conocimiento de la conservación evolutiva de los segmentos de DNA y el segundo la presencia de elementos altamente variables de DNA. La inspección de la diversidad genética para solucionar el problema del polimorfismo y esencialmente para otras investigaciones, se ha transformado en un objetivo central del programa de antropología de la Fundación Nacional de Ciencia (NSF<sup>1</sup>), así como el de Luca Cavalli-Sforza quien piensa que una de las razones más importantes es comprender la diversidad humana, tanto en la variación normal como en la de las enfermedades hereditarias<sup>2</sup>.

Para resolver estos problemas, Luca Cavalli-Sforza propone una solución simple, tomar una muestra de genes mediante los cultivos de linfocitos de los grupos aborígenes de diferentes partes del mundo (Cavalli-Sforza, 1990).

En 1991 varios científicos propusieron un esfuerzo global para estudiar la diversidad genética entre las personas del mundo. El proyecto, dijeron: "*podría dar una nueva luz de nuestra especie, desde los movimientos prehistóricos, la cultura y la lengua a través de los continentes, así como las bases genéticas de la susceptibilidad a enfermedades*". Esto fue tomado por los defensores de los indígenas como un colonialismo genético. A pesar de las controversias, se llevó a cabo la creación de un proyecto llamado el Proyecto de la Diversidad Genética Humana; propuesto por Cavalli-Sforza y Ken Kidd de la Universidad de Yale y Mary Claire Wilson, Charles Cantor de Berkeley en California. Todos ellos acordaron formar líneas celulares tomadas de individuos de diferentes regiones que podrían ser preparadas del DNA de sangre, del pelo y saliva. Esta colección podría centrarse en poblaciones que han sido aisladas geográficamente o que tienen una distinción cultural y lingüística; lo cual permitiría obtener una mayor cantidad de información (Weis, 1991; Kahn, 1994).

En torno al Proyecto de la Diversidad del Genoma Humano, que inició planes formales en 1994, surgieron algunas dudas tanto en la comunidad científica como en muchos de los grupos indígenas sobre sus repercusiones, quienes reaccionaron en contra de éste, porque consideraron que la información podría ser utilizada contra las personas

---

<sup>1</sup> National Science Foundation.

<sup>2</sup> Cavalli-Sforza *et al*, 1991; Leslie, 1991b; Wiess, 1991.

indígenas; por ejemplo, para desarrollar armas biológicas específicas contra los grupos indígenas, aún cuando actualmente ésto no sea científicamente posible. Mientras que los científicos del HGDH argumentan que el proyecto es una arma poderosa contra el racismo y contra las investigaciones del genoma humano.

Es fácil comprender el temor debido a que las teorías genéticas han sido utilizadas en este siglo para apoyar una ideología biologista. Esto podría llevar a un inherente racismo y podría llevar a una nueva definición de raza basada en ciertas características genéticas, a pesar de que hay un consenso de que las razas no pueden ser genéticamente definidas (Kahn, 1994).

A pesar de estas dudas, tanto en la población en general como en la comunidad científica, el estudio del polimorfismo traería beneficios, pues esta diferencia podría servir para inferir los grados de relación y construir arboles genealógicos. De igual forma, podría ayudar también a comprender toda la variación individual de la "secuencia" de referencia que surgirá del Proyecto Genoma Humano.

Más de 50 antropólogos, arqueólogos y lingüistas del mundo se reunieron en Pennsylvania con el objeto de identificar las 500 o más poblaciones indígenas del mundo, con la intención de cumplir con los objetivos del Proyecto sobre la Diversidad del Genoma Humano, para obtener información sobre la diversidad genética y cómo están relacionadas las poblaciones, de esta manera se podría sondear la historia evolutiva de la humanidad, se podría encontrar el origen humano, las rutas o los patrones de migración y expansión (Leslie, 1992b).

### **Estudios de Biología comparada**

El polimorfismo que por un lado causa serios problemas, por el otro permite un análisis de la historia evolutiva del hombre y de los organismos a nivel molecular. Se ha creado un ideal en esta línea de investigación, que podemos encuadrar con un fragmento de Cien años de Soledad de García Márquez, que dice en la siguiente estrofa:

*... porque entonces sabía que en los pergaminos  
de Melquíades estaba escrito su destino. Los encontró  
intactos, entre las plantas prehistóricas...y no tuvo  
serenidad para sacarlos a la luz, sino que allí mismo, de pie sin la menor  
dificultad, como si hubiera estado escrito en castellano  
bajo el resplandor deslumbrante del mediodía, empezó  
a descifrarlos en voz alta. Era la historia de la familia, escrita por  
Melquíades, hasta en sus detalles más triviales, con cien años  
de anticipación. GGM*

¿Hace cuántos millones de años que fuimos escritos?, ¿Hace cuántos millones de años que empezó la impresión de la biblioteca humana? y qué relación guarda con "la biblioteca viviente" (Di Mauri, 1996). El ideal en este sentido es estar un día, en forma parecida a Aureliano Babilonia, el personaje de García Márquez que encontró los manuscritos de Melquíades; descifrando y entendiendo la historia evolutiva de nuestra especie. Motivados por este ideal, muchas universidades del mundo están trabajando en el desciframiento del código hereditario del hombre para que quizás pronto, podamos leerlo

como si fuera un gran libro que recoge el pasado y el futuro de nuestra especie (Dulbecco y Chaberge, 1989). Al terminar el proyecto del genoma humano tendremos la posibilidad de identificar todos los genes que hacen al ser humano, y podremos comparar las secuencias del ser humano con las secuencias del ratón y determinar los genes que definen a un mamífero. Asimismo hacer la comparación con las secuencias de los demás organismos modelo. El enfoque a seguir será en principio un análisis comparativo, similar a la vieja tradición de la anatomía comparada, pero a un nivel molecular.

No sólo se pueden hacer comparaciones con las secuencias, sino también con los mapas y arreglos cromosómicos (Nadeau *et al.*, 1997). Después de la divergencia de los mamíferos hace unos 70 millones de años, el arreglo de los cromosomas se ha alterado del orden original de genes y en algunos casos se han intercambiado segmentos entre cromosomas. Sin embargo, el número de ordenamientos ha sido suficiente para que los restos de cromosomas ancestrales puedan ser encontrados en mapas genéticos, por comparación en la localización de genes homólogos de diferentes especies; estos estudios pueden asimismo revelar la organización y evolución del genoma.

También podremos tener un análisis comparativo entre nuestra especie, a partir del conocimiento de todas las secuencias de todos los tipos de seres humanos (el Proyecto de la Diversidad del Genoma Humano será fundamental para lograr esto), podríamos reconstruir mucho de la historia de las poblaciones humanas modernas en términos de migraciones prehistóricas y los efectos del fundador, podríamos estudiar la estructura de poblaciones humanas, las frecuencias y tipos de mutaciones, y la selección natural en humanos a lo largo de gradientes ambientales, así como también podríamos comprender nuestra susceptibilidad genética a muchas enfermedades (Diamond, 1991).

De igual forma tendremos la oportunidad de hacer análisis entre el genoma humano y otros organismos. Ya se han iniciado los trabajos comparativos, por ejemplo en el Departamento de ecología y evolución de la Universidad de Nueva York, están trabajando con secuencias de nucleótidos de 7 genes en especies vivas de 16 phyla, argumentando que la tasa de sustitución de nucleótidos es aproximadamente igual, los autores usan fósiles para observar diferencias y sincronizar los datos, en las secuencias de genes entre especies (Wray *et al.*, 1996).

A pesar de que el estudio de las cuestiones evolutivas no están incluidas directamente en los objetivos del PGH, la información obtenida influirá enormemente en el estudio de la evolución de los organismos involucrados, entre ellos como ya mencionamos el ser humano y todos los organismos que se vayan incorporando como candidatos a ser secuenciados, entre los que se encuentran plantas comerciales y animales domésticos.



## Organismos modelo

Entre los objetivos del Proyecto Genoma Humano está el de mapear y secuenciar el genoma de organismos llamados modelo, con el propósito de que sirvan como modelos de estudio en la comprensión de fenómenos biológicos, filogenéticos, evolutivos y como una herramienta para ayudar a interpretar el genoma humano. El estudio de estos organismos ha sido incluido como un proyecto paralelo adicional al Proyecto Genoma Humano (Engel, 1993), con la intención de mapear y secuenciar estos genomas antes de iniciar la secuenciación a gran escala del genoma humano. La idea primordial radica en tomar ventaja de la conservación evolutiva a través de las diferentes especies de animales con el fin de establecer correlaciones de éstos con el ser humano. Esta idea a sido encausada por observaciones hechas acerca de la homología de muchos genes de organismos, con los correspondientes genes humano. Esta homología puede ser utilizada como sonda para aislar genes, así como para facilitar el desarrollo de tecnologías para el análisis genómico, para experimentar los efectos de nuevos tratamientos médicos, medicamentos, y para elucidar funciones de los genes.

El mapeo y eventualmente la secuenciación del genoma humano podrá en principio revelar toda la información necesaria para entender el desarrollo biológico de un ser humano. Sin embargo, la habilidad para interpretar mucha de esta información dependerá de estudios de los organismos modelo, ya que la experimentación en los seres humanos está estrechamente limitada por consideraciones éticas (discutidas en el capítulo III) que existen en torno a este tema así como por factores prácticos. En contraste, los organismos modelo tales como las bacterias, levaduras, nemátodos, moscas y ratones pueden manipularse genéticamente con facilidad. El conocimiento obtenido del mapeo de genomas de estos organismos esta enfocado a comprender el genoma humano y muchos de los aspectos de la biología humana, tanto de los estados normales como de los anormales. Los organismos modelo tienen otra característica importante; muchos tienen genomas muchos más pequeños que el humano. Esta característica hace comprensible y mas sencillo el análisis del DNA; el genoma de *E. coli*, de levadura, del nemátodo, y de la mosca de la fruta son mucho más pequeños en tamaño que el genoma humano con medidas de 1/600, 1/200, 1/30, 1/20 respectivamente, comparados con el genoma humano. Con genomas más pequeños los métodos desarrollados pueden ser técnicamente manejables y probados con facilidad. Fundamentalmente estos genomas pequeños en realidad contienen muchos de los mismos genes que se encuentran en el genoma humano.

Desde el inicio de la biología molecular, los estudios con *Escherichia coli* ha revelado mucho de los procesos fundamentales de la vida. En 1987 fue terminado un mapa físico de su único cromosoma circular, en forma de una colección de clones de bacteriófagos sobrelapados. El esfuerzo sistemático ha producido ya la secuenciación de los 5 000 000 pb de nucleótidos que componen el genoma de *E. coli*. Con la secuencia del DNA de este organismo simple en relación a los demás organismos, podría ser posible identificar muchas de las funciones esenciales y necesarias para mantener la vida en forma independiente.

Los organismos eucariontes con su DNA empaquetado dentro del núcleo, están evolutivamente muy distantes de *E. coli*. La levadura *Saccharomyces cerevisiae* con un

genoma de aproximadamente 15 000 000 bp de nucleótidos es el organismo más simple con núcleo. La comparación entre estos genomas podría revelar las funciones básicas adicionales que distinguen eucariontes de procariontes. Se han hecho grandes avances en el estudio del genoma de la levadura *Schyzosaccharomyces pombe*, cuyo interés por su estudio se debe a similitudes importantes en la estructura cromosomal y funcional entre este organismo y los mamíferos. La conservación evolutiva de genes homólogos de diferentes organismos es de interés teórico y práctico para estudios de genes con funciones similares y análisis de distancia evolutivas. El genoma de la levadura *S. cerevisiae* ha sido secuenciado en su totalidad, se identificaron 5885 genes codificantes de proteínas potenciales, aproximadamente 140 genes de RNA ribosomal, 40 genes para pequeñas moléculas de RNA nuclear y 275 genes de RNA de transferencia. Estos datos proporcionan información acerca del alto orden de organización de los 16 cromosomas que integran el genoma de *S. cerevisiae* (Schuler *et al*, 1996).

La próxima etapa del proyecto del genoma de la levadura (*S. cerevisiae*), como de todos los genomas modelo incluyendo al ser humano, es dilucidar la función biológica de todos esos genes. El genoma de la levadura se consiguió a través de un esfuerzo internacional que incluyó la participación de 600 científicos de Norteamérica, Japón y Europa. La levadura tiene algunas ventajas sobre otros organismos modelo, es un organismo unicelular (eucarionte), que puede desarrollarse en medios definidos, lo cual permite un control experimental completo sobre su ambiente físico y químico, además presenta un ciclo de vida ideal para llevar a cabo análisis genéticos. El siguiente paso podría requerir de una participación internacional como se ha hecho con la secuenciación. En Europa se ha establecido un programa llamado EUROFAN<sup>1</sup>, con el propósito de emprender el análisis sistemático de la función de los genes de la levadura. Paralelamente otros países como Alemania, Japón, Canadá y Estados Unidos, están uniendo esfuerzos en el desarrollando de actividades similares destinadas a comprender la función de una simple célula eucarionte.

El esquema planteado de los organismos modelos abarca los cinco reinos, y están organizados en dos categorías: La primera categoría representa al ratón como mamífero estrechamente relacionado con el ser humano en términos de desarrollo, de tamaño del genoma, de historia evolutiva y complejidad en el arreglo de genes en los cromosomas. En la segunda categoría se encuentra aquellos organismos con los cuales se puede seguir la evolución de genes regulatorios. Estos organismos son la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, el gusano nemátodo *Caenorhabditis elegans*, la planta unicelular *Arabidopsis thaliana*, la bacteria gram-negativa *Escherichia coli*, la bacteria gram-positiva *Bacillus subtilis* y las especies de mycobacterias causantes de lepra y tuberculosis ( Yager *et al*, 1991).

En combinación con la capacidad mutacional, en el contexto de información biológica detallada y debido a que los animales multicelulares comparten junto con los mamíferos tipos celulares especializados en nervios, músculos, intestino y gónadas, el nemátodo *Caenorhabditis elegans* y la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* con genomas de aproximadamente 100 000 000 pb (organizados en 6 cromosomas) y 160 000 000 pb (organizados en 4 cromosomas) respectivamente, han llegado a ser sistemas

---

<sup>1</sup> European Functional Analysis Network.

biológicos poderosos para estudiar el papel que juegan muchos genes en el desarrollo embriológico y en el comportamiento. Por esta razón, se ha desarrollado un modelo experimental con *C. elegans* para trazar un mapa de genes durante el desarrollo del ciclo de vida de éste organismo con la intención de ver en que momento se encienden y se apagan estos genes durante el ciclo de vida.

Entre los organismos modelo, el ratón (mamífero) es probablemente uno de los más importantes por la estrecha relación con el hombre (tiene un genoma similar al humano) en términos de programas de desarrollo de mamíferos, de fisiología y complejidad biológica. Además, este organismo es un sistema poderoso en términos de su potencial biológico para la manipulación genética. La disponibilidad de líneas completas y el tiempo generacional de pocos meses lo hace accesible a estudios de genética clásica. Una ventaja más es la habilidad de manipulación de la línea germinal del ratón, incluyendo la capacidad para adicionar o eliminar genes específicos en la creación de ratones transgénicos. Estos ratones transgénicos han provisto el potencial para establecer la función de muchos genes presentes en el ratón y en el hombre. Es también importante la estrecha homología evolutiva en el arreglo de segmentos de genes a lo largo de los cromosomas. Estas características han impulsado de una manera sistemática la construcción de mapas físicos del genoma del ratón. Una manera comparativa de analizar con mayor precisión la identificación de genes y sus elementos regulatorios es la colocación de ambas secuencias en paralelo (Meisler, 1996).

Actualmente están disponibles mapas de genes de aquellos organismos cuya secuencia esta siendo terminada, incluyendo: 141 virus, 51 organelos, 2 eubacterias, una arqueobacteria y un eucarionte, la levadura *S. cerevisiae* (Schuler *et al.*, 1996). Además de la terminación de la secuencia de la levadura, ya se han determinado otros genomas bacteriales como: *Haemophilus influenzae* y *Mycoplasma genitalium*. Ha sido fundamental el uso de la tecnología como la informática y el uso de internet, para la coordinación, la adquisición y el análisis (Goffeau *et al.*, 1996). Otros organismos en el que se ha mostrado interés y ya se está trabajando en sus genomas, son algunas plantas y animales de valor económico como trigo, maíz y arroz.

Con el desarrollo de la informática se pueden usar programas que hagan alineamientos de secuencias, abriendo un campo comparativo en el análisis de genomas de genes homólogos de diferentes ordenes y especies de mamíferos. La información obtenida del alineamiento de regiones altamente conservadas, por ejemplo entre el ratón, la vaca, el gato y el hombre, revelan la cercanía o lejanía evolutiva entre estas especies.

Para facilitar la comparación directa entre especies divergentes, es necesario que un grupo de *loci* homólogos (ATS) sean mapeados en cada especie para servir como marcadores en el alineamiento de segmentos conservados. Los mejores marcadores podrían ser las secuencias de DNA de genes expresados para establecer homologías entre especies divergentes. Los mapas genéticos de más de 30 vertebrados están en camino de desarrollarse y los mapas de alta resolución con marcadores como los microsatélites han sido desarrollados para humanos, vacas, ovejas, puercos, peces y gallinas (Leslie *et al.*, 1997).

## Informática

Un componente fundamental del Proyecto Genoma Humano es la informática, que se encuentra contemplada en uno de los objetivos del PGH, en tres áreas principalmente: 1) En el manejo de los datos de laboratorio, 2) en la publicación y divulgación de los datos y 3) en la elaboración de herramientas de análisis. La necesidad de desarrollar esta área es debido a la enorme cantidad de datos e información que se está generando en el estudio del genoma con el fin incrementar la capacidad de almacenamiento y análisis de la información.

Para cumplir con este objetivo, se han creado varias bases de datos que tienen una gran utilidad para la comunidad científica interesada en el estudio del genoma. Entre estas bases de datos se encuentra el Base de Datos del Genoma (GDB<sup>1</sup>) el GenBank (Gene Bank) el Banco de Genes, de la Herencia Mendeliana del Hombre en Línea (OMIM<sup>2</sup>), así como las bases de datos en Europa y Japón.

La información sobre los genes mapeados y secuenciados se encuentra almacenada principalmente en las siguientes bases de datos:

El GenBank o banco de genes, está disponible tanto en línea (vía módem) y a través de computadoras de acceso compatible. La información que se encuentra está relacionada a los *loci* genéticos humanos (su polimorfismo, alelos y frecuencia alélica) y a otros agentes químicos (tales como cromosomas artificiales de levaduras, condiciones óptimas de PCR de STSs (ver apéndice), mapas genéticos, mapas físicos, desórdenes clínicos, citas bibliográficas (incluyendo su resumen) y contactos (nombres direcciones, teléfonos, e-mail).

El banco de datos de secuencias genéticas apoyado por el DOE y el NIH, el GenBank se encuentra localizado en los laboratorios nacionales de los Alamos, en él se colecta, se captura, se verifican y se anotan las secuencias. Este centro tiene gran importancia como repositorio internacional de todos los reportes de secuencias de nucleótidos (Pearson *et al*, 1991). El GenBank está conectado a una base de datos similar en el Laboratorio de Biología Molecular de Europa en Heidelberg EMBL<sup>3</sup>, que compila la información obtenida de la comunidad europea y de la base de datos del DNA de Japón<sup>4</sup>. Los tres grupos comparten responsabilidades para coleccionar la información de las secuencias alrededor del mundo. El objetivo de estas bases de datos es proporcionar un sistema significativo viable de almacenamiento y comunicación, de intercambio de referencias y difusión de los datos de mapas y secuencias.

Otra base de datos que opera bajo los auspicios del DOE y del NIH, es el GDB en Johns Hopkins University en el Welch Medical Library de Baltimore; que también ha llegado a ser una base internacional de datos sobre el genoma (Pearson *et al*, 1991). El GDB proporciona almacenamiento de toda la información relacionada con los mapas de genes incluyendo información sobre: marcadores de DNA, sondas de información, localización de mapas, información sobre *locus* de enfermedades genéticas y citas de referencias bibliográficas (Engel, 1993).

<sup>1</sup> Genome Data Base.

<sup>2</sup> On Line Mendelian Inherent of Man.

<sup>3</sup> [http://www.embl\\_heidelberg.de/](http://www.embl_heidelberg.de/)

<sup>4</sup> <http://ws4.niai.affrc.go.jp/dsearch2/jgbase.html>

El Genome Data Base(GDB) es la primer base de datos pública de información de mapeo humano. Una forma de búsqueda en red de la base de datos del genoma humano, se puede hacer a través de la página de GDB<sup>1</sup>, la búsqueda puede hacerse usando símbolos de los genes (ejemplo, SOD1) o el nombre (ej. superoxide dismutasa) los resultados incluyen otros nombres con los cuales el gen es conocido, además de incluir la localización citogenética de los genes, con el propósito de ayudar a verificar si la información obtenida es del gen apropiado. La página puede guiarnos hacia información adicional como: información específica del gen, lista de sustancias asociadas (agentes y reactivos), información sobre condiciones óptimas de PCR para los pares de cebadores (primers) de interés particular, información sobre clones, genes cercanos, marcadores genéticos, localización de mutaciones y polimorfismos de los mapas. También se puede tener acceso a otro tipo de información como la secuencia de DNA del gen, de genes homólogos en organismos modelo y desordenes genéticos.

Otra base de datos internacional que se ha creado, es el OMIM (Herencia Mendeliana del Hombre en Línea). El OMIM ofrece textos de catálogos de enfermedades genéticas y descripciones fenotípicas. Esta bases de datos es editada continuamente, integrando bibliografía e información de textos completos de datos sobre mapas relacionados con las enfermedades hereditarias. Esta información se encuentra accesible a través de interface y de internet a la comunidad científica sin costo alguno (Brandt, 1993).

El OMIM y el GDB proporciona acceso en línea alrededor del mundo al sistema en Baltimore vía internet (Network) y sprintnet (conexión telefónica vía módem), usando únicamente una emulación terminal simple de software para interactuar con la base de datos (Pearson *et al*, 1992). Actualmente también se está trabajando en el desarrollo de software especializado para analizar los datos obtenidos del mapeo y secuenciación de genomas de otros organismos, que en consecuencia han incrementado el número de bases de datos. Desde la fundación de la gran base de datos del GenBank en 1982 (Lewin, 1986b), localizada en los National Laboratory en los Estados Unidos y del European Molecular Biology Laboratory en Heidelberg ha crecido bastante en tamaño.

El almacenamiento y divulgación de la información presenta algunos problemas; Craig Venter y uno de sus colegas Mark D. Adams, no están de acuerdo en la colocación inmediata de la información, porque argumentan que puede haber un tremendo error en el control de calidad, sugieren que los datos deben pasar por un riguroso control de calidad, ser checados y ser anotados en la base de datos. Consideran que los sitios de Internet le han quitado el carácter serio que tienen las publicaciones científicas. Además, sugieren que los datos deberían incluir todo el protocolo científico de las publicaciones, incluyendo la descripción de los métodos utilizados para generar los datos. También hacen un llamado a las revistas científicas, a la comunidad científica, así como a las agencias que aportan fondos a las investigaciones para tolerar un formato específico y a considerar una variedad de enfoques en la generación, en la interpretación y en la publicación de los datos (Adams *et al*, 1996).

La información en el GDB, por ejemplo, entra de diferentes formas. Desde la presentación de la literatura de los investigadores y de los centros, hasta el proceso en el que los empleados del GDB, apoyados por un grupo de asesores copilan los datos. Los

---

<sup>1</sup> <http://gdbwww.gdb.org/gdb-bin/fg/genes>.

investigadores pueden enviar los datos electrónicamente utilizando formas de papel estándar, en los que necesariamente debería haber un formato control para asegurar el valor de la información (Pearson, *et al*, 1992).

Para resolver un poco este problema se han creado métodos y herramientas que incluyen programas que ayudan a establecer la autenticidad de mapas genéticos y de secuencia que compila datos primarios de grandes líneas de DNA y que detectan las características generales de genes dentro de las secuencias de DNA, por la similitud y por la composición específica de bases de secuencias codificadas, y por los límites de exones-intrones y otras características. Tales herramientas están jugando un papel fundamental en la definición de secuencias similares entre diferentes organismos, además, estas herramientas pueden ayudar a interpretar las nuevas secuencias de DNA (Brandt, 1993). A pesar de esto, desde el inicio del proyecto se pensó en la disponibilidad de la información a través de datos públicos con medios electrónicos (bases de datos) y no a través de la palabra escrita, ya que los archivos electrónicos podrían ser menos propensos a errores de transcripción; además la comunidad médica, las compañías biotecnológicas, la comunidad científica y otros grupos interesados en el proyecto, podrían ayudar a asegurar la circulación rápida y el alcance a nivel mundial a través de genotecas médicas (Keleher, 1993).

### **Entrenamiento de investigadores**

Una novedad más, involucrada en el Proyecto Genoma Humano y que se contempla como parte de los objetivos del proyecto, es el entrenamiento de investigadores jóvenes. Esta preocupación proviene de la necesidad de entrenar nuevos científicos con conocimientos y destrezas para llevar a cabo los objetivos del proyecto. Debido a la magnitud del Proyecto Genoma Humano y a la inmensa cantidad de información generada por éste, es necesario entrenar científicos y técnicos que mantengan una calidad homogénea de los datos obtenidos del mapeo y la secuenciación y participen activamente en la interpretación y el análisis de esta información.

Programas de entrenamiento para estudiantes de pre y posdoctorado, se han iniciado en varios países del mundo, particularmente en Estados Unidos, donde se ha puesto un énfasis particular en el entrenamiento multidisciplinario, para cubrir el hueco que se da entre la biología y otras áreas del conocimiento, tales como las ciencias de la computación, matemáticas e ingeniería. Por otro lado, también se están desarrollando una gran variedad de cursos y talleres especializados para la comunidad científica con el fin de tener acceso a la nueva tecnología (Yager *et al*, 1991; Marx, 1993).

## CAPITULO VI

### Ventajas del proyecto

A continuación señalaremos algunas de las ventajas del Proyecto Genoma Humano : las cuales encierran una esperanza para personas con daños en la información genética y que podrá evitarles sufrimientos inevitables.

El proyecto a pesar de sus críticas y polémicas presenta algunas ventajas en general que a continuación señalaremos:

Indudablemente tendrá un impacto positivo en las líneas de investigación científica tanto biológicas como ya lo señalamos reiteradamente, en la práctica médica, así como también en las investigaciones que pueden dar un giro a la industria biotecnológica con aplicaciones en la agricultura de plantas de cultivo y la cría de animales de granja de importancia económica. En este sentido, el proyecto está creando la infraestructura biológica (en cuanto a mayor cantidad de información sobre la naturaleza química y física de los seres vivos) para enriquecer y revolucionar tanto la biología como la práctica médica y la medicina clínica.

Entre los beneficios en el campo científico, está la comparación entre secuencias de DNA siguiendo un patrón de conservación, para estudiar los genes reguladores.

La determinación de la función de los genes mapeados y secuenciados, para comprender su papel dentro de los procesos biológicos. Para esto será fundamental el mejoramiento de nuevos métodos y estudios en organismos modelo. El ratón de laboratorio (por ser mamífero), presenta una ventaja para investigar la función de muchos genes humanos.

La información sobre mapas y secuencias de genes, mediante análisis comparativos, puede tener una importancia fundamental en estudios evolutivos. Ya sea entre la especie humana y los organismos modelo o estudios evolutivos en la población humana, que podrían aumentar la comprensión de nuestro origen y evolución.

El PGH impulsará el desarrollo de la informática para almacenar, organizar y propagar la información.

### En la práctica médica

La información de mapas y secuencias humanas influirá en la práctica médica en el siglo XXI, principalmente en la predicción, diagnóstico prevención y terapia

**Predicción.** La información de los mapas puede ser utilizada para predecir el riesgo individual de heredar una enfermedad genética.

**Diagnóstico.** Desde la primera descripción en 1903 de errores innatos del metabolismo por Sir Archibald Garrod, un gran número de enfermedades genéticas han sido asociadas con muchos componentes genéticos. Se han reconocido aproximadamente 4000 desórdenes genéticos que afligen a los seres humanos, así como también muchas de las enfermedades multifactoriales en las cuales la predisposición genética juega un papel importante (Friedman, 1990; Haq, 1993).

Se podrán encontrar los genes que causan enfermedades, y se podrán desarrollar diagnósticos seguros para muchas enfermedades hereditarias, las investigaciones ya han

identificado genes asociados con algunas enfermedades hereditarias como la fibrosis quística, la distrofia muscular de Duchenne, distrofia miotónica, neurofibromatosis, retinoblastoma, la enfermedad de Alzheimer. Otras investigaciones están encaminadas a identificar enfermedades causadas por varios genes o por una interacción de genes con el ambiente; la susceptibilidad genética ha sido aplicada en deficiencias y enfermedades fatales, como las enfermedades del corazón, apoplejía, diabetes, varios tipos de cáncer, enfermedades neuropsiquiátricas, degenerativas, enfermedades cardiovasculares, defectos del desarrollo y muchas otras más.

Terapia. La identificación de estos genes que provocan enfermedades y sus proteínas puede llevar a crear diferentes tipos de terapia, y podría haber grandes avances en la biotecnología molecular, tanto en los mapas como en el desarrollo de nueva tecnología, en el diseño de nuevos experimentos biológicos y en la sofisticación en el tratamiento de enfermedades (Engel, 1993; Lee, 1994); algunas terapias se mencionan en el capítulo III. De la misma forma, el conocimiento de estos genes y sus proteínas puede ayudar a perfeccionar las medidas preventivas; estas últimas estarán basadas sobre todo en dietas o administración de sustancias que retarden o bloqueen los efectos de genes causantes de enfermedades.

Con respecto a la aplicación médica los organismos modelo son de gran importancia, pues la carencia de humanos como modelos experimentales son uno de los factores limitantes en el estudio de muchas enfermedades humanas.

El Proyecto Genoma Humano proporcionará las herramientas necesarias para un rápido aislamiento de genes, causantes de enfermedades hereditarias de tipo mendeliano, es decir que son causadas por una sola mutación en un sólo gen. Sin embargo, hay muchas otras enfermedades que presentan vías variables y no son mendelianas, ya que pueden ser resultado de una interacción compleja de genes y ambiente. A pesar de todos los avances hechos en biología molecular, las leyes de Mendel siguen siendo un método indirecto muy usado. Hasta 1980 no había un método práctico que permitiera la localización de los genes responsable de enfermedades mendelianas, pero una idea propuesta por David Botstein se ha estado usando con éxito para el aislamiento de enfermedades de tipo mendeliano. Con este método se ha podido localizar varios genes causantes de enfermedades mendelianas dando gran ímpetu al Proyecto Genoma Humano. Este método se basa en la interferencia en el orden y las distancias relativas entre genes que se encuentran a lo largo de un solo cromosoma, llamado mapeo genético de enlace o mapeo genético (Los Alamos Science, 1992, p. 73). Cuando se cuenta con mapas de enlace o genéticos con marcadores altamente polimórficos y con los mapas físicos ordenados, la clonación de fragmentos de DNA para buscar genes causantes de enfermedades se convertirá en una rutina. En cierta forma, el Proyecto proporcionará los mapas genéticos y físicos que harán más fácil el estudio de las enfermedades de tipo mendeliano y enfermedades complejas o multigénicas

Muchos de los avances que se harán en el campo de la medicina, serán los instrumentos automatizados para examinar polimorfismo de DNA y crear la posibilidad de identificar el polimorfismo de genes que causan enfermedades o predisposiciones a enfermedades en forma rápida, eficaz y más barata. Actualmente se cuenta con la habilidad para reconocer una secuencia de DNA individual con una molécula complementaria entre la sonda y el DNA, esto es conocido como diagnóstico, esta técnica puede figurar en la medicina como diagnóstico de enfermedades genéticas de un sólo gen que ya han sido



identificados y posteriormente podrían mejorarse para diagnosticar la predisposición a enfermedades cardiovasculares y neurológicas que son poligénicas (resultado de dos o más genes) (Hood, 1993).

También tendrá influencia en la medicina forense y cuestiones legales en el esclarecimiento de identidad de individuos implicados en asuntos delictivos con ayuda de la ciencia forense, a través de tejidos, células, fluidos corporales como: el semen, la saliva, en base a los estudios del polimorfismo existente en muchas regiones del genoma humano. Esto podría llevar a desarrollar y diseñar pruebas sensibles y rápidas para distinguir idiotipos en los cambios de bases de las secuencias.

El Proyecto, en resumen, creará una infraestructura, tanto para la medicina como para las ciencias biológicas. Se espera que después de cumplidos los objetivos del Proyecto Genoma Humano (capítulo II) las investigaciones puedan moverse a un segundo nivel de investigación, principalmente dirigida hacia las relaciones entre genes y enfermedades. El proyecto puede servir como estímulo para crear nuevas disciplinas académicas en biología aplicada, y puede ser la base para la organización de otros grandes proyectos, muchos de los cuales podrían enfocarse en animales y plantas de importancia económica; estos proyectos pueden hacerse probablemente en el sector privado. De esta forma, el impacto del PGH podría extenderse en la industria biotecnológica más allá de su aplicación médica (Yager *et al.*, 1991; Cantor, 1991).

## Conclusiones

Cumplir los objetivos de mapear y secuenciar el genoma humano, lleva implícito otras cuestiones relacionadas con el genoma.

En primer lugar señalaremos que muchas de las instituciones que están involucradas en el PGH son instituciones relacionadas con la medicina, tanto las instituciones gubernamentales como las empresas biotecnológicas. Razón por la que podemos darnos cuenta que el Proyecto Genoma Humano no sólo es un esfuerzo aislado de la biología molecular, sino que se debe en parte, al desarrollo natural de la interacción medicina-conocimiento biológico. En este sentido simple, la idea de la determinación de los mapas y secuencias, es por un lado un intento para definir todos los genes humanos, así como también un intento para tener herramientas novedosas para enfrentar las enfermedades, como lo ha hecho el hombre a lo largo de su historia; pero al mismo tiempo, ese origen polémico es el resultado de la ideología capitalista de producción, la ideología de conocer y entender la naturaleza para explotarla y obtener ganancias económicas. A partir de 1987 empezaron a crearse un mayor número de empresas biotecnológicas<sup>1</sup>. Las empresas biotecnológicas tienen una fuerte participación económica en las investigaciones alrededor del mundo. Ha llegado a ser tan grande el entusiasmo, que algunos empresarios como Frederick Bourke han considerado a la industria biotecnológica como la segunda revolución industrial, "*pienso que la habilidad para secuenciar DNA en el genoma podría ser la próxima revolución industrial*"; señaló al intentar una alianza entre las instituciones públicas y privadas en la secuenciación de genomas (Anderson y Aldhous; 1992).

El proyecto sobre el genoma humano es un producto del conocimiento de la ciencia moderna. Con un objetivo ambicioso y con herramientas conceptuales y técnicas limitadas. Estas limitaciones se han dado desde varios niveles. Empezando por su presupuesto que a pesar de haberse considerado, ha sobrepasado el costo planeado; a pesar de haberse convertido en un proyecto de cooperación internacional.

Por otro lado, existe una limitación técnica; que tiene que depender del avance tecnológico actual; por lo que se carece de una estrategia ideal que pudiera acelerar el avance en las investigaciones sobre el genoma.

La construcción de mapas físicos, es una actividad tediosa y con muchas dificultades. Sin embargo, para muchos científicos interesados en el estudio del genoma humano vale la pena el esfuerzo. Científicos como Bob Moyzis piensa que la organización estructural del DNA humano es una pieza clave para entender su función. Maynard Olsons está interesado en terminar el mapa físico tan sólo por satisfacción propia. Otros personajes, como Nancy Wexler, se han dedicado al aislamiento de genes, causantes de enfermedades en un esfuerzo por encontrar un tratamiento adecuado.

Las investigaciones no dependen de una sola técnica para mapear <sup>y secuenciar</sup> todo el genoma. Las técnicas por sí solas tienen cierto rango de resolución y cuando han alcanzado este límite se vuelven técnicas insuficientes e inadecuadas. Por consiguiente, es necesaria la combinación de varias técnicas y métodos para hacer posible los objetivos del proyecto, en

---

<sup>1</sup> como SEQ Ltd (Princeton); INCYTE Pharmaceuticals Inc. (Palo Alto CA); Myriad Genetics Inc. (Salt Lake City U. T.); Mercator Genetics Inc. (financiada por Eli Lilly y Co. (San Francisco, CA); Human Genome Science Inc. (Rockville, MD); Genomyx Inc. (San Francisco); Genome Systems Inc. (St Louis MS); y muchas más tanto en los Estados Unidos, Europa y Japón (Anderson, 1993).

el apéndice A pueden consultarse algunas de las técnicas de investigación utilizadas en el PGH. Por otro lado tenemos que los mapas y secuencias son representaciones promedio. Los primeros son lugares probables de localización de genes y las segundas son secuencias "patrón" del genoma humano. El problema fundamental en este asunto es la estandarización de un mapa de genes. Para hacer esto, tienen que usarse los diferentes mapas (presentados en el apéndice A), para dar un lugar estándar de la posición de un gen en el cromosoma. Lo mismo sucede con la secuencia. Para tener una secuencia patrón de un gen, del genoma humano, deben encontrarse las variaciones en toda la población. Estos problemas técnicos de estandarización de mapas y secuencias, deben considerarse seriamente, para discutir en forma adecuada los usos y aplicaciones de la información.

A pesar de estas limitaciones técnicas y de las críticas hacia la carencia de un beneficio médico por considerar que de todo el genoma humano sólo el 10% está compuesto de regiones codificadoras, es decir, regiones que contienen genes y el 90% restante son regiones que no codifican<sup>1</sup>, "DNA basura". El proyecto se terminara según lo planeado el 30 de septiembre del año 2005.

Ante las limitaciones de conocimientos profundos sobre el genoma existen preocupaciones por un mal manejo de la información, ya sea en forma de beneficios comerciales (capítulo III), o tendencias discriminatorias y racistas (Capítulo III y IV) la UNESCO, ha considerado algunos puntos importantes (McKusik, 1992). Señala por ejemplo: que todas las personas del mundo deben tener acceso a la información y al conocimiento surgido de las investigaciones del genoma humano y deben tener una oportunidad de beneficio. Además que todas las personas del mundo deben ser representadas en las discusiones de cuestiones éticas y sociales de este conocimiento. La resolución de la UNESCO, es que el genoma humano debe ser considerado como un patrimonio de la humanidad, y en base ha esto, plantear las discusiones y resolver los problemas éticos y legales.

Se ha visto al Proyecto Genoma Humano de diferentes formas, entre ellas la de considerarlo como una versión del siglo 20 del descubrimiento y consolidación de la tabla periódica entre 1869 y 1889 (Lander, 1996), actividad que llevó a consolidarla como una herramienta de investigación en las ciencias químicas. En este sentido, las investigaciones en el genoma humano y en otros organismos modelo podrán cimentar una "piedra de la Rosetta" para investigaciones futuras sobre la naturaleza química de los organismos. Asimismo las innovaciones tecnológicas pueden ser nuevos métodos de mapeo, secuenciación e informática que podrían tener un impacto profundo en la biología, principalmente en el incremento de la computación para biólogos, su adecuación para lograr una gran expansión en redes y bases de datos biológicos, como el GenBank.

---

<sup>1</sup> Bob Moyzis que ha pasado varios años estudiando telómeros y centrómeros humanos, considera que los telómeros no codifican para ninguna proteína. Sin embargo, son piezas importantes para dar estabilidad a los cromosomas durante la replicación del DNA. Los centrómeros están involucrados en la apropiada separación de los cromosomas durante la división celular. Así que por consecuencia una mala separación da como resultado una aneuploidia que es una de las mayores causas de anomalías embrionarias (Los Alamos Science, 1992, p. 80-81).

Por otro lado, para continuar muchas de estas investigaciones sobre el genoma después del año 2005, se han creado áreas interdisciplinarias de entrenamiento para jóvenes interesados.

Es importante remarcar que contar con el alfabeto del DNA no implica que conoceremos la función del gen o de su interrelación con otros genes y que la traducción de este gen a una proteína no servirá de nada, si no sabemos que hace dicha proteína. Es importante señalarlo por el creciente interés en el análisis e interpretación del genoma humano (Capítulo V) en un sentido reduccionista. Sin embargo, este enfoque reduccionista (discutido el capítulo V) puede representar una herramienta y un paso hacia la comprensión de muchos fenómenos biológicos<sup>1</sup> y el inicio de una nueva era en la biología, en la medicina y en la comprensión de la naturaleza humana y de otros organismos.(Engel, 1993).

El 25 y 30 de mayo de 1953 Watson y Crick, con dos publicaciones cortas revolucionaron la biología del siglo XX. que en una forma acelerada desembocaría en la medicina molecular, diagnosis a nivel genotípico, producción de productos terapéuticos, comprensión del cáncer y otras enfermedades comunes a nivel molecular, así como la base teórica de una terapia génica. En este sentido los frutos del Proyecto Genoma Humano (el conocimiento de los 50 000 o 100 000 genes) son la culminación de este enfoque de investigación y que en forma inevitable modificará radicalmente la medicina, nuestra forma de vida, y quizás incluso el paisaje que nos rodea, todo gracias a los nuevos "brujos genéticos".

La medicina y el conocimiento de los seres vivos han estado estrechamente ligadas y el dominio del DNA, en cierta forma representa el triunfo del mecanicismo, en cuanto a la interpretación en el siglo XX de la biología. Con este par de ideas podemos resumir la intención planteada en el subtítulo del trabajo "una aproximación histórica" y en una forma esquemática señalar el desarrollo de las "medicinas" (Cid, 1978), como tres períodos de tendencias médicas. El primer, el de la medicina mágica ligada a los designios divinos, que duró desde el mismo origen de la humanidad hasta el siglo V antes de Cristo, en el que la explicación y la cura de las enfermedades estaban basadas en las concepciones religiosas de los diferentes pueblos.

A partir del Siglo V antes de Cristo se inició una nueva medicina con la concepción de la influencia de factores ambientales, que a partir de la observación de la naturaleza de las cosas y de ideas y reflexiones filosóficas se planteó un esquema cuatripartito que duró hasta casi finales del siglo pasado y que conformó un segundo período de la medicina.

El tercer período es el inicio de una nueva medicina con una fuerte influencia de la naturaleza interna del organismo. Han pasado casi 53 años después de que Avery, MacLeod y McCarty (1944) descubrieran que el DNA es responsable de la información genética y 44 años de que Watson y Crick elucidaran su estructura. La medicina, que en el mundo occidental practicó durante más de 2000 años un esquema cuatripartito basado en los primeros principios (cuatro elementos: tierra, aire, agua y fuego), ha entrado a una etapa de un nuevo enfoque médico. Un esquema que curiosamente se asemeja a una versión modernizada del viejo esquema basado en cuatro elementos. El principio de las cuatro bases nucleotídicas (adenina (A), timina (T), citocina (C) y guanina (G)), es un sistema

---

<sup>1</sup> Davis, 1992; Rosemberg, 1992; Sarkar y Tauber, 1993; Beckwith, 1996.

*cuadrinucleotídico* basado en la naturaleza química del DNA como causas fundamentales de las enfermedades. Es notable esta tendencia a nivel internacional en el medio académico de muchas universidades, principalmente entre médicos, biólogos moleculares, genetistas y muchas personas relacionadas con la práctica médica, que tienen una concepción fuertemente arraigada; una nueva concepción de ver en los genes y en las molécula del DNA, el principio explicativo de la naturaleza del ser humano. Y naturalmente la base de sus enfermedades hereditarias y la susceptibilidad de muchas otras que son determinadas ante la interacción con el medio.

Esta concepción de ver a la molécula de DNA como principio regidor de la vida y la creación y realización del Proyecto Genoma Humano, puede llevar a la medicina moderna a caer en un nuevo esquema "cuadripartito" que parece crecer en la comunidad médica y científica. El esquema cuadripartito surgió a partir de una reflexión filosófica, pero esta nueva visión, está surgiendo bajo una carencia total de ésta. Un esquema que no necesariamente refleja la realidad, y curiosamente como si fuera una repetición de la historia, el esquema "cuadripartito" (de cuatro partes) de la tradición médica griega, hipocrática y galénica tomará 2000 años después, una versión, digna de la "edad del DNA".

Finalizamos señalando que la discusión central de una secuencia "tipo" o patrón" realizada por necesidad mas que por convicción debe recordarnos, por un lado, que el genoma es una entidad dinámica y por otro que no podemos generalizar el resultado de un genoma patrón sobre ciento o miles de individuos con genomas un poco diferentes. Por estas razones pensamos que el proyecto genoma humano debe servir para conocer y comprender nuestra naturaleza y no para la destrucción de nuestra libertad.

## Referencias:

- Adams, Mark D. *et al.* (1991) Complementary DNA Sequencing: Expressed Sequence Tags and Human Genome Project. *Science*. **252**:1651-1656
- Adams, Mark D. *et al.* (1996) Should Non-Peer-Reviewed Raw DNA sequence Data Released Be Forced on the Scientific Community?. *Science*. **274**:534-536
- Aldhous, Peter (1991a) Who needs a genome ethics treaty?. *Nature*. **351**: 507
- (1991b) New office for Hugo in Soviet Union. *Nature*. **351**: 683
- (1991c) HUGO flirting with Johns Hopkins. *Nature*. **352**: 3
- (1992) French Genome Project on Track at Last. *Science*. **258** : 29
- Anderson, Christopher(1991) US Patent application stirs up gene hunters. *Nature* **353**: 485-487
- (1992a) Patents: ruon two. *Nature*. **355**: 665
- (1992b) US genome head faces charges of conflicts. *Nature*. **356**: 463
- (1992c) Watson resigns, genome project open to change. *Nature*. **356**: 549
- (1992d) US Rules out genes patent treaty. *Nature*. **358**: 180
- Anderson, Ch. and Aldhous P. (1992) Genome projects faces comercialization test. *Nature*. **355**: 483-484
- Anderson, Christopher (1993) Genome Project Goes Commercial. *Science*. **259**: 300-302
- Ayala J. F. y Dozhansky T. (editores) (1983) Introducción. Estudios sobre filosofía de la biología. Editorial Ariel. Primera edición. Barcelona, España. pp 9-20
- Barrera Saldaña H.A; Rojas Martinez A; Rivera Pérez J.A.; Vázquez Alemán R.M.; Gonzalez Garay, M.L. (1992) Diagnóstico molecular de enfermedades hereditarias: en memoria del Dr Eduardo Aguirre Pequeño. *Gaceta Médica de México*. Nov-Dic. **128(6)**: 613-620 discusión 620-621
- Barry Holland and Charalambos Cyriacou (Ed.) (1993) Genetic and Society. Addison-Wesley Publishers Ltd. 1ª edición University Press. Cambridge
- Bassford; Tamsen L. y Lynn Hauck (1993) Human Genome Project and Cancer: The Ethical Implications for Clinical Practice. *Seminars in Oncology Nursing*. **9(3)**: 134-138
- Beckwith, Jon (1996) The Hegemony of the Gene: Reductionism in Molecular Biology. The Phylosophy and History of Molecular Biology: New Perspectives. S. Sarkar (Ed.). Kluwer Academic Publisher. pp 171-183
- Bentley, David R. (1996) Genomic Sequence Information Should Be Released Immediately and Freely in the Public Domain. *Science*. **274**: 533-534
- Bishop, Jerry. (1992) GENOMA: La historia de la aventura científica más asombrosa de nuestro tiempo, el intento de trazar el mapa genético del cuerpo humano. Plaza & Jone. pp 401
- Bodmer, Sir Walter (1992) Genome Research in Europe. *Science*. **256**: 480-483
- Botnarivc, N. (1990) La biología en la época del renacimiento y del capitalismo manufacturero. Historia de la Biología. 1ª edición Editorial Labor S.A. Madrid España. pp 143-196
- Blume, Elaine (1993) Collins Take Helm Of NIH Genome Project. *Journal of the National Cancer Institute*. **85(9)**: 694-696
- Brandt, Kerry A. (1993) The GDB Human Genome Date Base: a source of integrated genetic mapping and disease data. *Bull med Libr Assoc*. **81(3)**: 285-291
- Brown, T. A. (1992) Gene Cloning: An Introduction, Second edition, Chapman & Hall,; 286.
- Brown, T. A. (1992) Genetic & Molecular Approach, Second edition, Chapman & Hall,; 467
- Cantor, Charles R. (1990) Orchestrating the Human Genome Project. *Science*, **248**: 49-51
- Carrillo A. Jose Luis y Plaisant Z. Octavio (1997). La ciencia va más rapido que la conciencia. *INVESTIGACION HOY.* (Revista) (Instituto Politécnico Nacional). GENOMA HUMANO: la modificación de la herencia. Julio/agosto **77**: 28-30

- Casey, D. *et al*, Human Genome 1989-1990 Program Report. (apéndice)
- Cavalli-Sforza, L.L. *et al*. (1991) Call for a Worldwide Survey of Human Genetics Diversity: a Vanishing Opportunity for the Human Genome Project. *Genomics*. **11**: 490-491
- Cavalli-Sforza, L. L. (1990) Opinion: How Can One Study Individual Variation for 3 Billion Nucleotides of the Human Genome? *Am. J. Hum. Genet.* **46**: 469-651
- Cid, Felipe (1978) Breve historia de las ciencias médicas. Editorial ESPAXS. Barcelona, España.
- Cohen, O. *et al*. (1994) Las esperanzas de la terapia génica. *Mundo científico* **153 (15)**: 17-21
- Coles, Peter (1990b) A different approach. *Nature*, **347**:  
 ----- (1990a) Keeping them guessing. *Nature*, **343**: 579
- Coperías, Enrique M. (1995) Embriones humanos de usar y tirar. *Muy Interesante* pp 5-8
- Cotton, Richard G.H. (1997) Slowly but surely towards better scanning for mutations. *TIG* February **13 (2)**: 43-46
- Curien, Hubert (1991) The Human Genome Project and Patents. (Letter) *Science*, **254**: 1710
- Chee, Mark *et al* (1996) Accessing Genetic Information with High-Density DNA Arrays. *Science*, **274**: 610-614
- Davis, Bernard D. (1992) Sequencing the Human Genome: A Faded Goal. *Bull N.Y. Acad. Med.* **68 (1)**:115-125
- Di Mauro, Ernesto (1996) El Dios genético. Ediciones de la Torre. Madrid, España
- Diamond, Jared M. (1991) A way to world knowledge. *Nature*, **352**: 567
- Dickman, Steven and Peter Aldhous (1991) Helping Europe compete in human genome research. *Nature*, **350**: 261
- Dodet, Betty (1994) El nacimiento de un nuevo producto comercial: el DNA medicamento. *Mundo científico* **153 (15)**: 14-16
- Dulbecco, Renato (1986) A Turning Point in Cancer Research: Sequencing the Human Genome. *Science*, **231**: 1055-1056
- Dulbecco, R. y R Chaberge (1989) Ingenieros de la vida: medicina y ética en la era del DNA. Ediciones Piramide S.A. Madrid, España
- Dulbecco, Renato (1990) The Italian Genome Project. *Genomic* **7**: 294-297
- Einsenberg, Rebecca S. (1997) Structure and function in gene patenting. *Nature Genetics*, **15**:125-130
- Engel, L. W. (1993) The Human Genome Project: History, Goals and Progress to Date. *Arch Pathol Lab Med* **117**: 459-465
- Figuera Lee, y Cantu J.M (1993). División de Genética, Centro de Investigación Biomédica de Occidente IMSS Guadalajara, Jalisco. El aporte de América Latina al conocimiento del genoma humano. *Boletín de la oficina sanitaria Panamericana*. julio **115 (1)**:12-18
- Freeland J. H. (1993) A History of the Science and Technology Behind Gene. In: Kevles DJ, Hood L.(eds.) The Code of codes: Scientific and Social Issues in the Human Genome Project. Harvard University Press. pp 37-83 (apéndice)
- Friedman, Theodore (1990) Opinion: The Human Genome Project -Some Implication of extensive "Reverse-genetic" Medicine. *Am. J. Hum. Genet.* **46**: 407-414
- Gelehrter, Thomas D. and Collins Francis S (1990) Principles of Medical Genetics. Edit. Williams & Wilkin Baltimore U.S.A. pp 255-297
- Gilbert, W. A. (1991) Towards a paradigm shift in biology. *Nature* **349**: 99
- Gilbert, W. A. (1993) Vision Of the Grail. In: Kevles DJ, Hood L. (eds.). The Code of Codes: Scientific and Social Issues in the Human Genome Project. Harvard University Press. pp - 83-97
- Goffeau A. *et al*, (1996) Life With 6000 Genes. *Science*, **274**:546-567

- Grausz, J. Davis and Charles Auffray (1993) Strategies in cDNA Programs. *Genomics*. 17: 530-532
- Green, E.D., Cox, D. & Myers, R.M. (1992) The Human Genome Project and its Impact on the Study of Human Disease; Chapter 6: 6-1 a 6-37 (apéndice)
- Griffiths, J.F.A., Miller, H. J., Suzuki, T.A., Lewontin C.R. & Gelbart M.W. An introduction to Genetic Analysis, 1993. W.H. Freeman and Co. quinta edición
- Grisolía, Santiago (1991) UNESCO Program for the Human Genome Project. *Genomics*. 9: 404-405
- Gros, François (1992) The Gene Civilization. McGraw-Hill inc
- Gros, François (1993) Co-chairman's remarks: Jim Watson: The Double Helix. *Messenger RNA and the Human Genome Project - a Personal view*. **135: 305-308**
- Guyer, M. S. & Collins F. (1993) The Human Genome Project and The Future of Medicine: *AJDC* -**149**:1145-1152.
- Haq, M.M. (1993) Medical Genetics and the Human Genome Project: a historical review. *Texas Medicine / the journal* **89(3)**: 68-73
- Hood, L. (1993) Biology and Medicine in the Twenty-firts Century. In: Kevles DJ, Hood L (eds.) The Code of codes: Scientific and Social Issues in the Human Genome Project. Harvard University Press. pp 136-163
- Hunkapiller T.R. *et al*, (1991) Large-Scale and Automated DNA Sequence Determination. *Science*, **254**: 59-67
- Jahn, I. (1990) Conocimientos y nociones acerca de la vida y los seres vivos desde la sociedad primitiva hasta el desarrollo pleno del feudalismo (8000 ac -S.XIV). Historia de la Biología. 1ª edición Editorial Labor S. A. Madrid, España. pp
- Jordan, Bertrand R. (1990) The French Human Genome Program. *Genomics*, **9**: 562-563
- Kahn, Patricia (1996) Coming To Grips With Genes and Risk. *Science*, **274**: 496-498
- (1994) Genetic Diversity Project Tries Again. *Science*, **266**: 720-722
- Keleher Cynthia (1993) Translating the genetics library: The goal, methods and applications of the Human Genome Project. *Bull Med. Libr Assoc.* **81(3)**: 274-277
- Kevles D. J. (1993) Predictive Medicine: Human Genome Analysis. Out of Eugenics: the Historical, Politics of the Human Genome. In: Kevles DJ, y Hood L. (eds.) The Code of Codes: cientific and social issues in the human genome project. Harvard University Press pp 3-36
- Kitcher, Philip. (1996) The Lives To Comes. Simon and Schuster Center 1230
- Lander, Eric S. (1996) The New Genomics Global Views of Biology. *Science*, **274**: 537-539
- Lapham E. Virginia, *et al*. (1996) Genetics Discrimination: Perspectives of Consumers. *Science*, **274**: 621-624
- Leder, Philip (1990) Can the Human Genome Project Be Saved from Its Critics... and Itself?. *Cell*, **63**: 1-3
- Lederberg, Joshua (1993) What the Double Helix (1953) has Meant for Basic Biomedical Science. *JAMA* april 21, **269(15)**: 1981-1985
- Lee, Thomas F. (1994) El Proyecto Genoma Humano. Gedisa S.A. Barcelona, España. 1ª edición
- Lindley, David (1992) Controversial NIH genome researcher leaves for new \$70 million institute. *Nature*, **358**: 95
- Leslie Roberts (1990) Genome Center Grants Chosen. *Science*, **249**: 1497
- (1991a) DOE's Genome Project Comes of Age. *Science*, **252**: 498-501
- (1991b) Genetics Survey Gains Momentum. *Science*, **254**: 517
- (1991c) MRC Denies Blocking Access to Genome Data. *Science*, **254**: 1583
- (1992a) Why Watson Quit as Project Head. *Science*, **256**: 301-302



- (1992b) Anthropologist Climb (Gingerly) on Board. *Science*, **258**: 1300-1301
- Leslie A. Lyons *et al*, (1997) Comparative Anchor Tagged Sequences (CATS) for integrative mapping of mammalian genomes. *Nature Genetics*, **15**: 47-56
- Lewin, Roger (1986a) Proposal to Sequence the Human Genome Stirs Debate. *Science*, **232**: 1598-1600
- Lewin, Roger (1986b) DNA Data Base Are Swamped. *Science*, **232**: 1599
- Little, Peter (1990) Clone maps made simple. *Nature*, **346**: 611-612
- Los Alamos Science, 1992
- Löther, R. (1990) Problemas metodológicos en la biología del XX y en especial en su desarrollo más reciente. Historia de la Biología. 1ª edición Editorial Labor S. A. Madrid, España. pp 522-529
- Marshall, Elliot (1994) Rules on Embryo Research Due Out. *Science*, **265**: 1024-1026
- (1996) The Genome Program's Conscience. *Science*, **274**: 488-490
- (1997) Gene Test Get tested. *Science*, **275**: 782.
- Marx, Jean (1993) Genome Project Plans described. *Science*, **260**: 152-153
- Matsubara, Kenechi and Mariko Kakunaga. (1992) The Genome Efforts in Japan as of 1991. *Genomics*, **12**: 618-620
- McKusik, A (1992) First South-North Human Genome Conference. *Genomics*, **14**: 1121-1123.
- McInerney, Joseph D. (1993) The Human Genome Project Relevant to Genetics Education in High School. *Am J. Hum. Genet.* **52**: 235-238
- Meisler, H. Miriam (1996) The Role of the Laboratory Mouse in the Human Genome Project. *Am. J. Hum. Genet.* **59**: 764-771
- Morell, Virginia (1993) Huntington's Gene Finally Found. *Science*, **260**: 28-230
- Nabielek R. (1990) La biología en la sociedad feudal. Historia de la Biología. 1ª edición Editorial Labor S.A. Madrid, España. pp 91-134
- Nadeau, Joseph H. and David Scankoff (1997) Landmarks in the Rosetta Stone of mammalian comparative maps. *Nature Genetics*, **15**: 6-7
- Newell, John. (1990) Manipuladores de genes. Ediciones Piramide S. A. Madrid, España
- Pearson P.L. *et al*, (1991) The Human Genome Initiative -Do Database Reflect Current Progress?. *Science*, **254**: 214-215
- Pearson, P. L. *et al*, (1992) The GDB (TM) Human Genome Data Base Anno 1992. *Nucleic Acids Research*, **20**: 2201-2206
- Pirt, S. John (1991) Genome Project (news). *Nature*, **350**:104
- Rechsteiner, Martin C. (1991) The Human Genome Project: misguided science policy. *TIBS* december **16**: 453-460
- Reilly, Philip R *et al*, (1997) "Ethical issues in genetic research: Disclosure and informed consent. *Nature Genetics*, **15**: 16-20
- Robinson, Alex. (1993) Learning the secret of human chromosomes: Canada's role in an international project. *Can. Med.Assoc. S.* **148(8)**: 1309-1313
- Rosemberg, Leon E. (1992) The Human Genome Project. *Bull N.Y. Acad. Med.* January- February **68(1)**: 113
- Rossiter, B. J.F. & Caskey, C. T. (1995) Impact of the Human Genome Project on Medical Practice. *Annals of Surgical Oncology.* **2(1)**: 14-25.
- Sanmartín, Jose (1987) Los nuevos redentores. Anthopos., Barcelona, España.
- Sarkar, S. and Tauber I. A. (1991) Fallacious Claims for HGP. *Nature*, **353**: 691
- Sarkar S. (Monica Mansour, traductora) (1992) ¿Para que sirve el proyecto genoma humano?. *La Jornada*.(suplemento) 15 noviembre pp 29-39
- Sarkar, S. and Tauber I. A. (1993) The ideology of the human genome project. *Journal of the Royal Society of Medicine* **86**: 537-540

- Sarkar, S. and Tauber I. A. (1993) The ideology of the human genome project. *Journal of the Royal Society of Medicine* **86**: 537-540.
- Sarkar, S. (ed.) (1996) *The Phylosophy and History of Molecular Biology: New Perspectives*. Kluwer Academic Publisher. Printed in the Natherlands. Pp. 1-13.
- Schuler G.D. *et al.* (1996) A Gene Map Of The Human Genome. *Science*, **274**: 540-546.
- Suzuky, y Kutson (Sanmartín, J. Trad.) (1991) *GenEtica*. Tecnos, S. A. España.
- Swinbanks, David (1990), "Japan gets its act together", *Nature*, **347**: 220.
- (1991), "DNA research institute to open en Japan", *Nature*, **349**: 640.
- Sinsheimer, R. L. (1990), Letter, "Human Genome Inicitiva", *Science*, **249**: 1359.
- Spurgeon, David (1992) "Canada commits money for human genome research", *Nature*, **357**: 428.
- Stewart , E. A. *et al.* (1997), "An STS-Based Radiation Hybrid Map of the Human Genome", *Genome Research*, **7**: 422-433.
- Tauber, Alfred I. (1996) The Molecularization of Inmunology en *The Phylosophy and History of Molecular Biology: New Perspective*, S. Sarkar (Ed.) Kluwer Academic Publisher. Pp 125-169.
- US Department of Healt and Human Service and U.S. Department of Energy. Understanding our genetics inheritance, the U.S. Human Genome Project The First Five Years FY 1991-1995, Department of Commerce, Springfield, Virginia. 1990.
- US Department of Energy Office of Health and Enviromental Research, Human Genome 1991-1992, Program Report Washintong D.C. Primer informe.
- US Department of Healt and Human Service and U.S. Department of Energy. "Understanding inheritance. An Introduction to Classical and Molecular Genetics", los Alamos Science number 20, 1992. Segundo informe.
- US departament of Energy Office of Health and Enviromental Research, Human Genome. Program Report (1993). Department of Commerce, Springfield, Virginia Tercer informe
- US Department of Healt and Human Service and U.S. Department of Energy (1995). "Understanding our genetics inheritance, the U S. Human Genome Project", Department of Commerce, Springfield.
- Watson J.D. (1990) "The Human Genome Project: Past, Present and Future", *Science*, **248**: 44-48.
- Watson and Cook-Deegan (1991) "Origins of the Human Genome Project", *FASEB J* **5**: 8-11.
- Watson, Traci (1992), News, "Collins to head NIH Genome Centre, open laboratory", *Nature*, **360**: 703.
- Weis, John H. (1990), "Usefulness of the Human Genome Project", *Science*, Vol. pp 1
- Weiss, Mark L. (1991), "Saving Aboriginal DNA", (Letter) *Science*, Vol. p. 1467.
- Wilkie, Tom (1993) *El conocimiento peligroso: el Proyecto Genoma Humano y sus implicaciones*, Faber and Faber. 1ª edición.
- Wray *et al.* (1996), Molecular Evidence For Deep Precambrian Divergences Among Metazoan Phyla, *Science*, **274**: 568-573.
- Yager, TD; Nickerson DA y Hood LE., (1991), The Human Genome Project: creating an infrastructure for biology and medicine, *TIBS* december **16**: 456-461.

## Apéndice A

### Estrategias de Mapeo y secuenciación del genoma humano

Un objetivo fundamental del Proyecto Genoma Humano es hacer una serie de mapas descriptivos de cada uno de los cromosomas humanos incrementando su resolución. El mapeo incluye la división de los cromosomas en pequeños fragmentos que puedan ser clonados, caracterizados y ordenados en sus localizaciones correspondientes en los cromosomas. Después de que el mapa está terminado, el siguiente paso es determinar la secuencia de bases de cada uno de los fragmentos de DNA ordenados. El último objetivo de las investigaciones es encontrar todas las secuencias de DNA de todos los genes y desarrollar herramientas para usar esta información en el estudio de la biología humana y la medicina, mejorando la instrumentación y las técnicas requeridas para mapear y secuenciar. Los objetivos incluyen la automatización y optimización de técnicas para extraer el máximo de información de los mapas y secuencias.

Un mapa genómico describe el orden de los genes y otros marcadores y el espacio entre ellos en cada cromosoma. Los mapas del genoma humano son construidos en diferentes escalas y niveles de resolución; la resolución ordinaria en los mapas genéticos o de ligamiento, representa una localización relativa de marcadores de DNA en el cromosoma (genes de DNA y otras secuencias de DNA identificables) por sus patrones de herencia. Un mapa físico describe las características químicas de la molécula de DNA. A continuación describimos los diferentes tipos de Mapas, los cuales se encuentran en forma esquemática en la Figura 2.

#### Mapas físicos

El cariotipo es la primera representación visual de los cromosomas (Figura 1) que pueden revelar deleciones, rearrreglos, translocaciones, u otras anormalidades cromosómicas, que en algún punto sirven de herramientas para el aislamiento de genes defectuosos como la distrofia muscular de Duchenne o el síndrome del cromosoma frágil X (Green *et al.*, 1992).

Después del cariotipo se dan los diferentes tipos de mapas físicos, que varían en su grado de resolución. El mapa físico de más baja resolución es el de los cromosomas (algunas veces llamado citogenético "Citogenetic map de la figura 2"), el cual se basa en los diferentes patrones de bandeo observado por medio de la microscopía de luz de cromosomas teñidos. Un mapa de DNAC muestra la localización de regiones de DNA expresado (exones) en el mapa cromosómico. Los mapas más detallados de contigs (fragmentos sobrelapados de DNA clonado) de cósmidos o YACs representan el orden de fragmentos de DNA sobrelapados extendidos sobre el cromosoma (Figura 3). Un mapa de macrorrestricción puede describir el orden y la distancia entre los sitios de corte de endonucleasas de restricción. El mapa físico de mayor resolución es la elucidación completa de la secuencia de pares de bases del DNA de cada cromosoma en el genoma humano (Casey *et al.*, 1989-1990; Rossite y Caskey, 1995). (Figura 2).



Figura 1 Ejemplo de un cariotipo humano. Los cromosomas en metafase fueron extraídos de un linfocito y teñidos con Giemsa. Pueden apreciarse claramente los 22 pares de cromosomas homólogos autosómicos y un par de cromosomas sexuales. La falta de homología de los cromosomas sexuales indica que este cariotipo pertenece a un hombre. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 11.

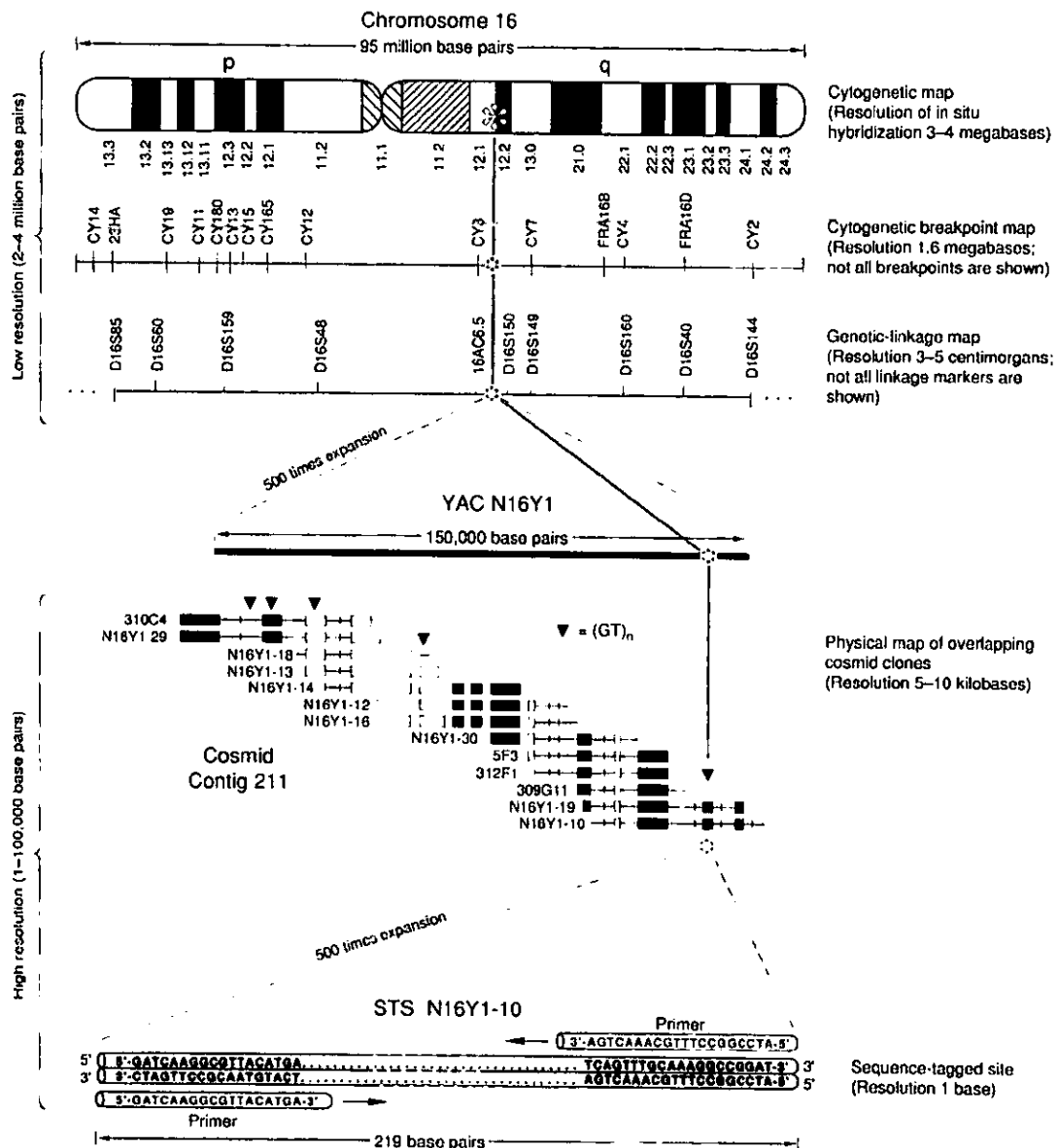


Figura 2 Mapas del cromosoma humano 16 hechos con diferentes técnicas y diferentes grados de resolución. La figura muestra únicamente algunos marcadores en cada mapa e indica el nivel de resolución de cada uno. Entre los mapas de baja resolución se encuentran: el mapa citogenético, el mapa citogenético de híbridos y el mapa genético de unión. Los mapas de alta resolución incluyen: el mapa de fragmentos ordenados y clonados de cósmidos (cosmid contigs), conectados previamente gracias a clones de YAC (Cromosoma Artificial de Levadura), y la más alta resolución del genoma humano que es la secuencia nucleotídica. Los STSs o marcadores únicos en el genoma han sido utilizados para crear los marcadores en el mapa físico. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 56.

### Integration of Linkage Map with Physical Map

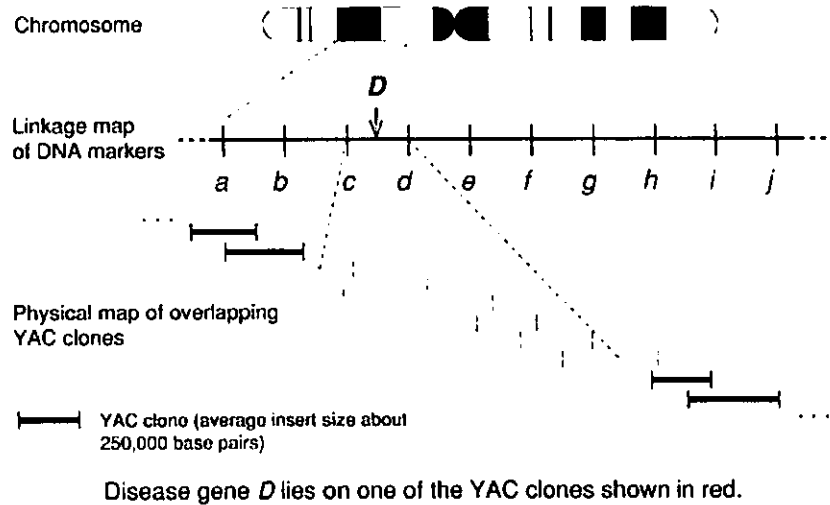


Figura 3 Representación esquemática de un cromosoma humano en metafase (Las bandas oscuras indican regiones ricas en A y T). La figura muestra una porción de un mapa de unión con sus respectivos marcadores de DNA polimórficos. La posición de un gen causante de la enfermedad *D* en el mapa, es determinada mediante el análisis de unión y los correspondientes fragmentos clonados de un mapa físico integrados para esa región. Las líneas espaciadas conectan los *loci* en el mapa físico y el cromosoma en metafase. Las líneas resaltadas en rojo muestran los clones que deben ser encontrados para localizar el gen causante de una enfermedad. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 99.

## **Mapa físico de baja resolución**

### **Mapa cromosómico**

Los mapas cromosómicos o citogenéticos han jugado un papel importante en la diagnosis y en el estudio de enfermedades de tipo genético.

En un mapa cromosómico los genes y otros fragmentos de DNA identificables son asignados a sus respectivos cromosomas con distancias medidas en pares de bases (pb). La resolución de este tipo de mapas es de aproximadamente 5 000 a 10 000 Kb (Rossite y Caskey, 1995). Hay marcadores que pueden ser asociados con bandas particulares (identificadas con tinciones cromosómicas) primero con hibridación *in situ*, una técnica que incluye, DNA marcado con una señal observable (con fluorescencia o radiactividad), la localización de la sonda marcada puede ser detectada después si la banda de DNA es complementaria en un cromosoma intacto.

Los mapas citogenéticos más convencionales del genoma humano haploide (los 22 cromosomas autosómicos y uno sexual) contienen aproximadamente, un total de 350 a 500 bandas en metafase, y cada banda contiene aproximadamente de 5 a 10 Mb de DNA (el tamaño físico de una banda puede ser fácilmente observable en un cromosoma). Con métodos sofisticados para detectar este patrón de bandeo aumenta la resolución del mapa citogenético pudiendo identificar hasta 1 000 bandas en el genoma humano (Green *et al*, 1992).

Como un mapa genético de ligamiento, el mapeo cromosómico puede ser utilizado para localizar marcadores genéticos definidos por rasgos observables; debido a que los mapas están basados en estimaciones de distancias físicas, son considerados como mapas físicos, el número de pares de bases dentro de una banda puede solamente ser aproximada.

Recientemente los mejores mapas cromosómicos pueden ser utilizados con fragmentos de DNA en una región de aproximadamente 10 Mb. Mejorando los métodos de fluorescencia de hibridación *in situ* (FISH) se sigue la orientación de las secuencias de DNA que están tan cerca como entre 2 a 5 Mb. Las modificaciones para la hibridación *in situ*, usando cromosomas en un estado de división celular de interfase (cuando los cromosomas están menos compactados), incrementa la resolución del mapa aproximadamente a 100 000 pares de bases (pb). Además el refinamiento del bandeo lleva a las bandas de los cromosomas a estar asociados con fragmentos de DNA específicos amplificados, un avance que podría ser útil en el análisis de rasgos físicos observables asociados con anomalías cromosómicas (Casey *et al*, 1989-1990).

### **Mapas genéticos de ligamiento (Genetic-linkage map)**

Mostrado en la figura 2

El concepto de mapa de ligamiento genético fue introducido por Thomas Morgan y su estudiante A. H. Sturtevant. Un mapa genético de unión muestra la localización relativa de marcadores específicos de DNA a lo largo del cromosoma (alguna característica física o molecular de la herencia que es diferente entre los individuos) siguiendo patrones de herencia de un par de marcadores en una familia (Keleher, 1993).

Si dos marcadores se heredan juntos con una frecuencia de 99% es muy probable que se encuentren en el mismo cromosoma, en contraste, aquel par de marcadores con una frecuencia de un 50% indicaría muy probablemente que ambos se encuentran muy separados en un mismo cromosoma o simplemente que están localizados en diferentes cromosomas (Keleher, 1993). Por lo tanto, entre más cerca se encuentren dos marcadores tienen más posibilidades de que se cohereden (Guyer y Collins, 1993).

La unidad de medida de los mapas de ligamiento genético es una recombinación, es decir, los marcadores separados a un centimorgan (cM) (aproximadamente un millón de bases), presentan en promedio una recombinación de uno en cien meiosis (Rossie y Caskey, 1995).

En un mapa genético, la distancia entre marcadores es medida en términos de un centimorgan (cM) llamado así en honor del genetista norteamericano Thomas Morgan: dos marcadores están separados por un centimorgan (1 cM) si la recombinación es del 1% en un evento, una distancia genética de un cM es aproximadamente igual a una distancia física de un millón de pb (1Mb)(un centimorgan equivale aproximadamente a un millón de pares de bases) la resolución común de muchas regiones de un mapa genético humano es aproximadamente 10 Mb (Casey *et al*, 1989-1990; Keleher, 1993; Guyer y Collins, 1993; Rossie y Caskey, 1995; Green *et al*, 1992). Los marcadores pueden ser expresados en regiones de DNA (genes) o segmentos de DNA que no tienen funciones codificantes conocidas sino que sus patrones de herencia pueden ser seguidos. Las diferencias en las secuencias de DNA son especialmente marcadores útiles debido a que son abundantes y fáciles de caracterizar. Los marcadores deben ser polimórficos para ser usados en el mapeo; esto significa que deben existir formas alternativas entre los individuos para que puedan ser detectables entre diferentes miembros en estudios familiares. Los polimorfismos son variaciones en las secuencias de DNA que ocurren una vez en un promedio de 300 a 500 pares de bases. La variación dentro de la secuencia de exones puede ser llevada a cambios observables, tales como la diferencia de color, tipo de sangre y susceptibilidad a las enfermedades. Muchas variaciones ocurren dentro de los intrones y tienen poco o ningún efecto en la apariencia o función del organismo. Sin embargo son detectables a nivel de DNA y pueden ser utilizados como marcadores (Casey *et al*, 1989-1990).

Las secuencias de variación o polimorfismos, son las bases de la variabilidad genética (Guyer y Collins, 1993). Los marcadores polimórficos generalmente usados para la construcción de este tipo de mapa son los fragmentos de restricción de longitud polimórfica o RFLPs. Los RFLPs no están asociados con las enfermedades, sino son heredados con genes conocidos causantes de enfermedades y están localizados estrechamente juntos en los cromosomas, reflejando variaciones de secuencias en sitios de DNA que pueden ser cortados por enzimas de restricción de DNA (Figura 4) y un número variable de secuencias repetitivas tándem (Casey *et al*, 1989-1990). Las secuencias repetitivas en tándem (Figura 5) como los microsatélites que son pequeñas secuencias que varían en el número de unidades repetidas (dinucleótidas, trinucleótidas o tetranucleótidas), y en longitud (una característica fácil de medir) por lo que pueden usarse para construir un mapa genético de ligamiento observando como dos marcadores son heredados juntos (Guyer y Collins, 1993; Rossie y Casey, 1995).



**Locus *a*: A Region with a Sequence Variation at a Restriction Site**

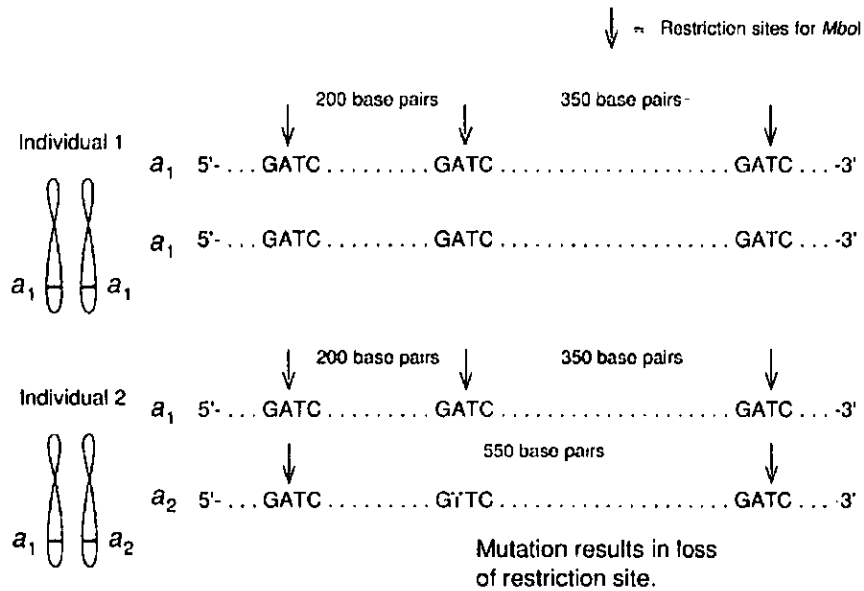


Figura 4 Segmentos de DNA que componen el locus *a* en un par de cromosomas homólogos de dos individuos. Esta figura muestra el ejemplo de una región con variación en una base nucleotídica, que pudiera ser utilizada como un marcador de DNA (Por ejemplo: RFLPs o Fragmentos de restricción de longitud polimórfica). La variación detectable en el cambio de una sola base puede resultar en la creación o pérdida del sitio de anclaje de una endonucleasa de restricción. En este ejemplo: la mutación de una A por una T resultó en la pérdida del sitio de anclaje de la endonucleasa de restricción *Mbo* I. Nótese la variación en tamaño de los fragmentos obtenidos de la digestión con la enzima *Mbo* I. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 95.

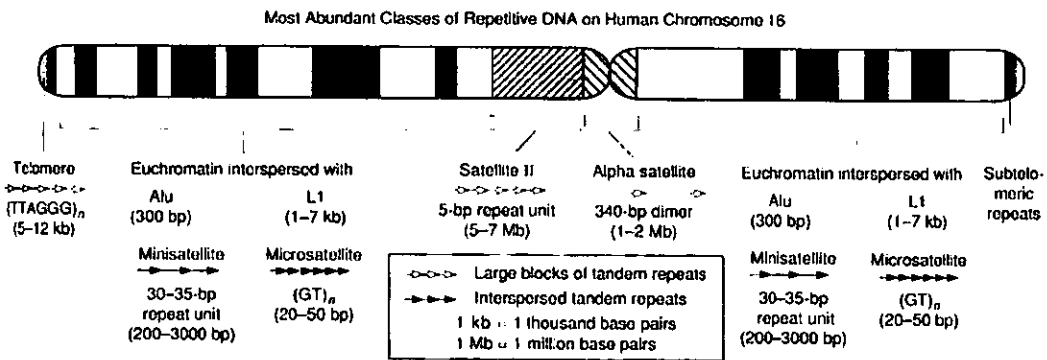


Figura 5 La figura ilustra las distintas clases de secuencias repetitivas de DNA en el cromosoma humano 16. Se estima que un 25 a un 35 por ciento del genoma humano esta compuesto por secuencias repetitivas de DNA. Tomada de los Alamos Science, 1992, p. 187.

Dos marcadores localizados uno cerca del otro en el mismo cromosoma pueden pasarse juntos de padres a hijos durante la producción normal de espermatozoides y óvulos. Las hebras de DNA ocasionalmente se rompen y se reinsertan en lugares diferentes en el mismo cromosoma o en la otra copia del mismo cromosoma (en los cromosomas homólogos). Este proceso llamado recombinación meiótica (Figura 6) puede resultar en la separación de dos marcadores originalmente en el mismo cromosoma. En la cercanía entre uno y otro - una unión fuerte - tiene una baja probabilidad de que en una recombinación de eventos sean separados. de esta forma la frecuencia de recombinación proporciona una estimación de la distancia entre dos marcadores.

El valor del mapa genético radica en que una enfermedad hereditaria puede ser localizada en el mapa, siguiendo la herencia de un marcador de DNA presente en individuos afectados (pero ausente en individuos no afectados) (Green *et al*, 1992). Sin embargo, ni la base molecular de la enfermedad ni la identificación del gen pueden ser comprendidos. Los mapas genéticos de ligamiento han sido usados para encontrar la localización cromosómica exacta de varios genes de enfermedades importantes incluyendo la fibrosis quística, anemia falciforme, la enfermedad de Tay-Sachs, la distrofia miotónica etc. (Casey *et al*, 1989-1990; Los Alamos Science, 1992).

En 1991, el NCHGR (National Center of Human Genome Research) distribuyó una lista de 283 marcadores genéticos humanos altamente informativos, en los que 163 (58%) fueron microsatélites. Un año más tarde, el número de dichos marcadores se incrementó a más de 1100, incluyendo 1022 microsatélites (89%). Similarmente en 1992, Weissenbach y sus colegas publicaron un mapa de ligamiento genético del genoma humano que contenía 814 microsatélites y para 1993, este mismo laboratorio incrementó este número a más de 2000 (Guyer y Collins, 1993).

Durante casi todo el siglo XX se desarrollaron mapas de ligamiento genético refinados en organismos como: la bacteria *Escherichia coli*, la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, el gusano redondo (nematodo) *Caenorhabditis elegans* y el ratón *Mus musculus* (Guyer y Collins, 1993). Las limitaciones hechas en los humanos se dieron porque para la construcción de los mapas genéticos se requiere del aislamiento de cientos de miles de diferentes mutaciones (Guyer y Collins, 1993).

A finales de los setenta y principios de los ochenta, los mapas de ligamiento genético para humanos se fue haciendo más práctica por varios avances conceptuales y técnicos. El más importante fue el reconocimiento de pequeñas diferencias en ciertas secuencias de DNA (polimorfismos) entre individuos sin que presentaran un obvio efecto biológico, pero que pudiera ser identificado fácilmente en la construcción de mapas de ligamiento genético (Guyer y Collins, 1993) y el otro es el mejoramiento de las técnicas computacionales que permitieran la construcción de mapas por medio del análisis hereditario de los marcadores en extensas familias en lugar de los datos obtenidos de cruza controladas (Guyer y Collins, 1993).

Uno de los objetivos del proyecto es desarrollar un mapa genético de alta resolución (2 a 5 cM de distancia genética) (Casey *et al*, 1989-1990; Keleher, 1993; Rossite y Caskey, 1995). La resolución del mapeo genético ha sido incrementada a través de la aplicación de la tecnología del DNA recombinante, incluyendo radiación *in*

### Effect of Crossing Over on Allele Combinations in Gametes

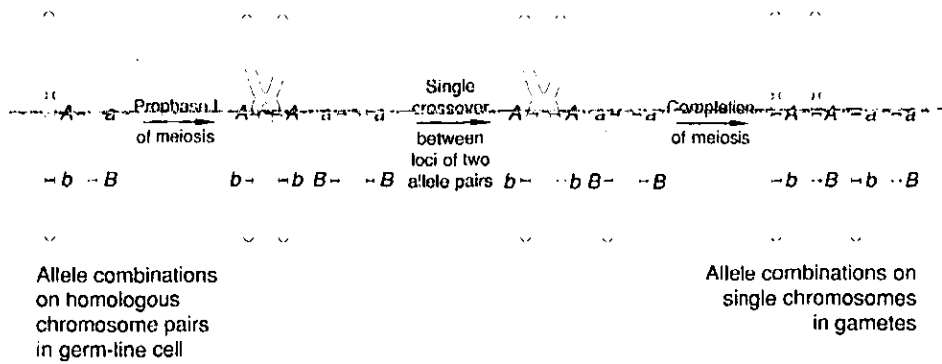


Figura 6 La figura ilustra los efectos de los entrecruzamientos en la combinación de alelos en los gametos durante la meiosis. El entrecruzamiento (Crossing Over) es el mecanismo de recombinación genética que incrementa la variabilidad genética. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 32.

*vitro*, fragmentación de cromosomas humanos específicos y variados (las dos copias de un cromosoma deben ser distinguidos uno de otro por marcadores polimórficos).

### **Mapas de híbridos de DNA radiado**

Se ha estado trabajando arduamente en el establecimiento de marcas relativas a lo largo de los cromosomas, y para este propósito se ha tomado ventaja de una técnica de mapeo llamada mapeo de híbridos de DNA radiado (Radiation Hybrid Mapping).

Para la creación de los híbridos se cultivan primeras líneas de células somáticas de cromosomas de humanos y se fragmentan usando una dosis de radiación letal. Los fragmentos de cromosomas generados (el tamaño depende de la dosis de radiación) de la radiación crean complejos rearrreglos cromosomales (Stewart, *et al*, 1997), los cuales son recuperados mediante la fusión con otra línea de células de roedor (hámster) no radiada recobrando bajo condiciones especiales colonias de células somáticas de híbridos viables (Stewart *et al*, 1997). Aproximadamente son generados 100 híbridos de líneas de células somáticas que contienen al azar fragmentos de cromosomas humanos. De esta manera, cada línea de célula híbrida recuperada, es analizada usando marcadores de DNA que ayudan a identificar cada fragmento de cromosoma, y a través del análisis estadístico se pueden orientar y estimar las distancias relativas entre ellos, permitiendo así el ensamblado de mapas de híbridos de DNA radiado.

Esta técnica es eficiente y constituye una manera rápida de mapear un gen de interés. Sólo basta con diseñar un STS (secuencia corta de DNA en la región candidata a contener el gen de interés) que sea único en el genoma humano y que no se presente en el genoma del roedor (hámster) para mapear la posición del gen estudiado. Otra posible aplicación, es en el mapeo de STSs y en el ensamblamiento de contigs (fragmentos sobrelapados y clonados de DNA) (Figura 7) de YACs (cromosomas artificiales de levadura) para orientar éstos con respecto al centrómero o al telómero (Green *et al*, 1993). En el Centro del Genoma Humano de la Universidad de Stanford en California (The Stanford Human Genome Center), han terminado la construcción de un mapa físico del genoma humano mediante el uso de un panel de 83 híbridos llamado panel G3 de Stanford, en conjunción de 10 478 STSs derivados de las secuencias al azar de DNA genómico (Stewart *et al*, 1997). En el análisis al azar, de 322 DNAC se encontró que el mapa cubre en una vasta mayoría el genoma humano. Este mapa de híbridos de DNA radiado puede ser la clave para cumplir con la meta planteada de crear un mapa físico que contenga 30 000 marcadores únicos ordenados entre sí en espacios intercalados de 100 Kb (Stewart *et al*, 1997).

### **Mapa de DNAC.**

Un mapa de DNA complementario (DNAC) muestra la posición de regiones expresadas (exones) relacionadas a regiones particulares del cromosoma o bandas (las regiones del DNA expresado son aquellas regiones transcritas en RNAm). El DNAC es sintetizado en el laboratorio utilizando moléculas de RNAm como patrón, si se siguen las reglas de apareamiento de bases (en el RNA en lugar de timina se utiliza uracilo)

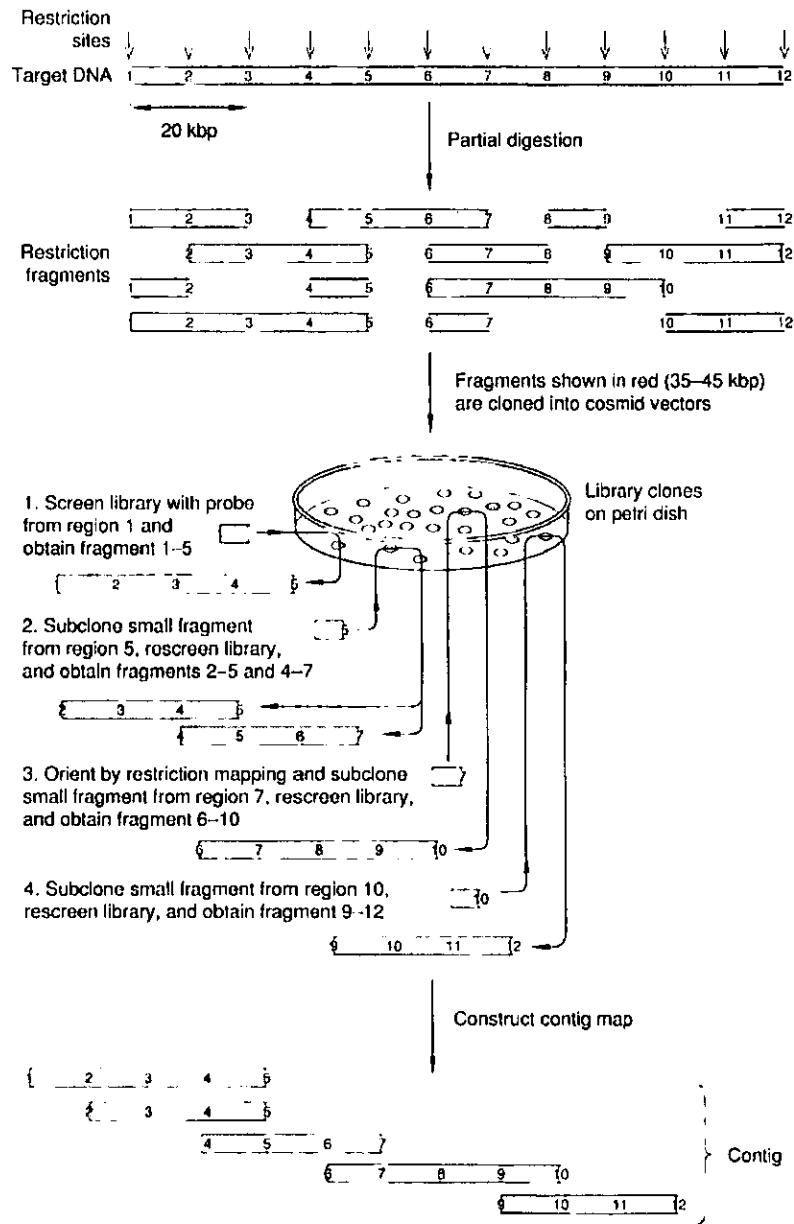


Figura 7 Muestra el ejemplo de una técnica muy usada para recobrar fragmentos de DNA clonados de un gen o de una región de DNA de interés llamada "Chromosome Walking". La figura muestra la construcción de una genoteca de DNA construida de la digestión parcial de DNA proviendo de una fuente de fragmentos clonados de DNA sobrelapados de todo el genoma. Para la identificación del gen de interés se usa una sonda de DNA marcada con un radioisótopo que se encuentra cerca del gen, tratando de encontrar su secuencia complementaria. En esta figura la sonda que se usó para encontrar todo el gen proviene de la región 1, demostrando que el fragmento 1-5 contiene tal región. Ahora el DNA de una pequeña porción de una sólo colonia en la región 5 es usada como sonda para identificar otros clones en la genoteca que contenga el DNA de la región 5. En este ejemplo, en un segundo intento se pudieron identificar dos fragmentos: 2-5 y 4-7. En un tercer intento usando como prueba la región 7 se pudo identificar el fragmento 6-10. Este proceso de repite hasta que se encuentran todos los clones que contengan el gen o el DNA de interés. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 234.

(Casey *et al.*, 1989-1990). Debido a que éstas representan regiones genómicas, el DNAc es utilizado para identificar las partes de la localización cromosómica para genes, cuyas funciones son comúnmente desconocidas y para cazar genes de enfermedades humanas. Los mapas también pueden sugerir un juego de genes candidatos a pruebas cuando la localización aproximada de un gen de alguna enfermedad ha sido mapeado por técnicas de ligamiento genético.

Trabajar con DNAc es una actividad común desde hace una década por su gran valor para identificar la secuencia vecina regulatoria. Además juega un papel esencial en la integración de la función del gen dentro de la célula y del organismo. Para localizar genes, pueden ser aislados miles de rNAm de células, de tejidos, u órganos como el cerebro de mamíferos y después ser utilizados por investigadores en el estudio del desarrollo y función del cerebro. Parece ser más eficiente para estos investigadores, aislar el RNAm, obtener DNAc, clonar el DNAc, secuenciar y mapear el juego de genes relacionados a una serie particular de funciones (Davis, 1992). Sin embargo como señalamos anteriormente hay muchos genes que tiene una expresión muy baja y muchos genes regulatorios que pueden perderse durante el proceso (Casey *at al.* 1989-1990).

### **Mapeo físico de alta resolución**

Los dos métodos más comunes para el mapeo de alta resolución son llamados "top-down" (un mapa de macrorrestricción) y "bottom-up"(un mapa de contig). Con esta estrategia los mapas representan juegos ordenados de fragmentos de DNA que son generados por cortes del DNA genómico con enzimas de restricción, los fragmentos son después amplificados por clonación o por medio del PCR (Reacción en cadena de la polimerasa). Las técnicas de electroforesis en gel son después utilizados para separar fragmentos de acuerdo al tamaño en diferentes bandas las cuales pueden ser visualizadas por tinción directa del DNA o por hibridación con sondas de DNA de interés. El uso de cromosomas purificados separados, por soluciones de flujo en líneas celulares humanas o en líneas de células híbridas permite, que sea mapeado un sólo cromosoma.

Pueden utilizarse un gran número de estrategias para construir el orden original de los fragmentos de DNA en el genoma. Muchas de ellas usan la característica de una sola hebra de DNA y/o RNA para hibridar a un segmento de doble hebra por puentes de hidrógeno entre bases complementarias, la extensión de la homología de las secuencias entre las dos hebras puede ser inferidas de la longitud del segmento de doble hebra.

Un consorcio internacional de grupos de Norteamérica, Europa y Japón se organizaron para coordinar un esfuerzo para la construcción de un mapa que integrará la información actual. Como fruto de ese consorcio resultó la publicación de un artículo en Science llamado "A Gene Map of the Human Genome". El trabajo se basa principalmente en la secuenciación de DNAc propuesta por Bredmen y seguida por C. Venter y sus colegas centrados en la generación de pequeños fragmentos de DNAc llamados ESTs (expressed sequence tags o secuencias expresadas identificables) para crear un catálogo de genes humanos (Schulei, 1996), fue necesario cortar fragmentos de esas secuencias en grupos que representaban distintos genes, un gen puede estar representado por múltiples ESTs. Para hacer un mapeo eficiente se acompaña con de RNA mensajeros cuyas secuencias pueden ser eficientemente convertidas en STSs y

después se realiza un alineamiento con secuencias parecidas por lo menos en un 97% de identidad. Los mapas físicos no son representaciones sino sobrelapamientos de colecciones de DNA (Gilbert, 1993).

## Tecnología de secuenciación

Han sido desarrolladas varias técnicas para determinar la secuencia precisa de nucleótidos dentro de una hebra de DNA. Algunos de estos métodos son actualmente utilizados para establecer grandes cantidades de datos de secuencias de DNA, mientras que otros han quedado en etapas de desarrollo. La tecnología de secuenciación se ha mejorado mucho en las dos décadas pasadas.

A principios de los setenta una persona podía batallar mucho para completar 100 bases secuenciadas por año. Dos técnicas similares de secuenciación fueron desarrolladas, una por Allan Maxam and Walter Gilbert en los Estados Unidos (método químico, en el que se usan compuestos diferentes de enzimas) y otra por Fredrick Sanger (método, en el que se utilizan enzimas) y sus colegas en Inglaterra. Los dos métodos desarrollados de secuenciación solo determinan la secuenciación de una sola hebra de la molécula de DNA y ambos involucran 3 etapas principales. Este evento en la tecnología de la secuenciación ha hecho posible que una persona pudiera secuenciar miles de pares de bases por año.

Estas técnicas, por las que sus inventores ganaron juntos el Premio Nobel, todavía forman las bases de toda la tecnología de secuenciación actual. La técnica descrita por Sanger y colaboradores en 1977 llamado secuenciación en cadena terminal de deoxinucleótidos (dideoxi chain-termination sequencing), es el método mas utilizado. Esta técnica incluye la síntesis *in vitro* de moléculas de DNA en presencia de nucleótidos artificiales deoxinucleótidos (dideoxy<sup>1</sup>), los cuales impiden la extensión de la cadena cuando se han incorporado dentro de una hebra de DNA en síntesis. El resultado de las moléculas de DNA las cuales terminan en diferentes posiciones de nucleótidos, son después analizados por electroforesis en gel. La migración relativa de varios fragmentos de DNA puede ser utilizada para deducir el total de la secuencia iniciada en el DNA patrón. La detección de los fragmentos de DNA puede ser acompañado por la incorporación de radioactividad o más recientemente por grupos fluorescentes dentro del DNA. Las secuencias radiactivas migran dentro de la gel de acrilamina y después la gel es deshidratada en un papel filtro para después exponerse a una película de rayos X y detectar las bases terminales (nucleótidos) de los fragmentos generados del DNA patrón. En contraste la secuenciación fluorescente incluye la automatización en la detección por medio del rayo láser llegado a incrementarse popularmente (Figura 8).

Se ha intentado refinar las técnicas de secuenciación de DNA y se apunta principalmente a 1) Mejorar la seguridad, exactitud y eficiencia de los métodos de secuenciación de Sanger basados en la fluorescencia (incluyendo la implementación de

---

<sup>1</sup> un dideoxido es la contraparte de un deóxido (nucleótidos). Son análogos, sólo que en el dideoxido el grupo hidroxilo ha sido reemplazado por un hidrógeno; es por ello que una vez agregado el dideoxidonucleotido, la cadena se detiene porque no tiene un grupo hidroxilo al que atacar para que se agregue el siguiente dioxinucleótido.





más herramientas automatizadas) y 2) desarrollar radicalmente diferentes tecnologías de secuenciación de DNA que puedan mejorar la eficiencia en varios órdenes de magnitud (Hunkapiller, 1991)

Para lograr el objetivo del Proyecto Genoma Humano sobre la secuenciación de todos los cromosomas en el ser humano, es fundamental que cada paso en el proceso de secuenciación sean automatizados y finalmente integrados.

## **Secuenciación de DNA**

La secuenciación es el proceso para obtener una información detallada acerca de un fragmento de DNA en su secuencia base por base, y es la mejor resolución del mapa físico (figura 1. )(resolución, una base). Los mapas físicos están dirigidos a servir como recursos interrelacionados en las investigaciones científicas, principalmente para los genes responsables de enfermedades hereditarias y para investigaciones biológicas (estudios de genes, función y expresión de genes) (Engel, 1993), así como para el entendimiento de la estructura, la función, e historia evolutiva del genoma humano. En 1990, cuando se hicieron los planes para el Proyecto Genoma Humano, el costo estimado de la secuenciación era de \$2 a \$5 dólares por base. Con la tecnología del momento significaba que una sola persona podía producir entre 20 000 y 50000 bases por año, sin considerar que para reducir la tasa de error en la secuenciación se debe secuenciar la región de interés varias veces. La tasa de error en la secuenciación es muy baja, de 1 base en 100 000.

Para cumplir con la meta de secuenciar todo el genoma humano el Proyecto Genoma Humano ha desarrollado una estrategia de secuenciación multifacética a gran escala que considera los pasos esquematizados en la Figura 9.

El aislamiento del DNA genómico de células y la clonación de fragmentos grandes de este DNA en vectores como YACs o cósmidos para la construcción de mapas de contigs de la región que se quiere secuenciar. Es necesario que estos contigs estén orientados y arreglados en base a una posición relativa con respecto al genoma a secuenciarse. Pero debido al tamaño físico que estos contigs presentan es necesario romperlos en fragmentos relativamente pequeños y técnicamente manejables como el M13 (Figura 10), un bacteriófago cuyo genoma es una molécula de DNA de una sola hebra. Este vector puede aceptar fragmentos de DNA de entre 500 a 2000 pares de bases de largo para su subsecuente propagación en una célula huésped como la bacteria *E. coli*, haciéndose particularmente conveniente cuando se trata de usar el método de secuenciación de Sanger (Los Alamos Science, 1992. P. 152). Un mapa completo por ejemplo, podría estar representado por 150 000 cósmidos ( Little, 1990).

John Sulston director del centro Sanger en Cambridge y Robert Waterston director del centro de secuenciación del genoma en la universidad de Washington propusieron en 1992 un plan para conseguir la secuenciación del genoma completo a un costo de \$300 a \$400 millones de dólares consiguiendo la secuencia total a principios del año 2005. Estos científicos consideran que los directores de programas podrían reorganizar su presupuesto y reordenar prioridades, ya que piensan que la tecnología actual es suficiente para realizar la secuenciación. Las estrategias en los gobiernos han

## Steps in Large-Scale Sequencing

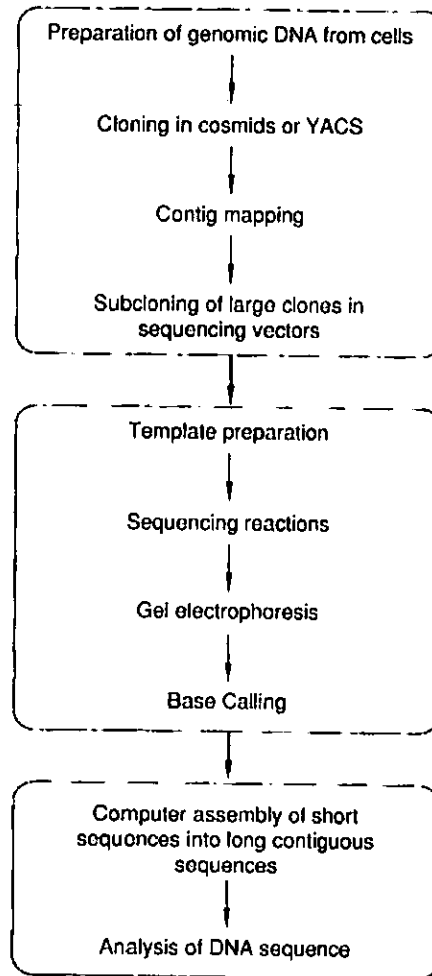


Figura 9 Etapas en la secuenciación a gran escala del genoma humano. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 151.

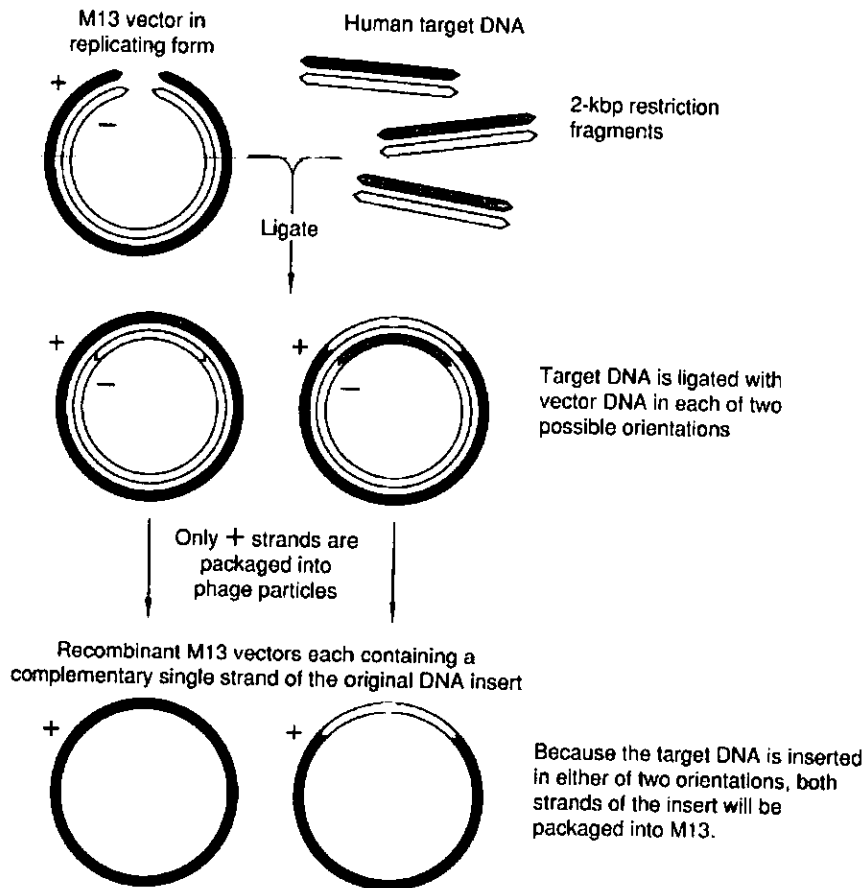


Figura10 Clonación usando el bacteriofago M13. Una doble hebra circular de DNA del fago del genoma es recobrada de las células infectadas de *E. coli* cortado con enzimas de restricción. El vector resultante se une entonces con el DNA blanco cortado con la misma enzima. La molécula recombinante entra a la bacteria como plásmido. Ya dentro de la bacteria se autorreplican y producen la proteína del fago. Únicamente la hebra + del genoma del fago es empaquetada como una progenie viral. De cualquier manera, eventualmente cantidades insertadas iguales de ambas hebras son obtenidas porque algunas de las inserciones se incorporan al DNA del fago orientados de tal manera que una hebra del inserto se incorpora dentro del fago en la hebra +. Además otros insertos entran de forma que la hebra complementaria sea incorporada dentro de la hebra +. Finalmente las hebras + son empaquetadas dentro de las partículas del fago y dejan la célula del hospedero sin dañarla. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 231.

sido extender las investigaciones en pequeños proyectos. Las secuencias biológicamente importantes podrían lograrse con las técnicas actuales con un 99.9% de exactitud.

La secuenciación de los 3 billones de pares de bases de nucleótidos que componen la molécula de DNA humano es una tarea ardua, delicada y de alto costo para el Proyecto Genoma Humano, que se ha fijado una meta ambiciosa de reducir el costo a por lo menos \$ 0.5 de dólar por base. Como mencionamos anteriormente los límites técnicos se resumen a un alto costo económico por la mano de obra y el costo de los reactivos. Por estas razones, una de las metas planteadas en los primeros cinco años del Proyecto Genoma Humano, fue el desarrollo de tecnología automatizada que redujera los costos al máximo en un año. Entre 1975 y 1992, el número de pares de bases publicadas creció de 25 000 a casi 100 millones. Por ejemplo: En 1991 la secuencia más larga reportada fue de 229 354 pares de bases del genoma del citomegalovirus y para 1992 los británicos secuenciaron todo el cromosoma III de la levadura (*S. cerevisiae*) reportando 315 357 pares de bases. Actualmente la lista se sigue incrementando a varios millones de pares de bases (Los Alamos Science, 1992, p. 151).

### **PCR (Reacción en cadena de la polimerasa)**

El PCR o Reacción en Cadena de la Polimerasa es una herramienta indispensable en la biología molecular y para el Proyecto Genoma Humano. El PCR es un método *in vitro* de síntesis enzimática de una región con un rango de 60 a 6000 pares de bases (Figura 11). El PCR ha jugado un papel importante en la identificación de marcadores en los mapas de los cromosomas. El PCR puede sintetizar millones de copias del fragmento de DNA escogido para ser amplificado. La mezcla de reactivos necesarios para llevar a cabo la reacción *in vitro* contenida en un tubo es la siguiente:

1) Un buffer que optimice la función enzimática y que también facilite el anclaje de las secuencias iniciadoras o cebador<sup>1</sup>.

2) Dos secuencias iniciadoras (secuencias cebadoras) cortas de 15-22 nucleótidos de largo de una sola hebra. Estas secuencias cortas son también llamadas oligonucleótidos y generalmente son sintetizados comercialmente. El propósito de estas secuencias cortas de oligonucleótidos es de anclaje a la hebra de DNA complementaria en la región de nuestro DNA genómico blanco. De esta manera, la polimerasa puede guiarse para sintetizar e extenderse.

3) Una mezcla de deoxirribonucleótidos trifosféricos libres (dATP, dGTP, dCTP y dTTP).

4) Una polimerasa de DNA termoestable que catalice la síntesis de la hebra de DNA complementaria de la secuencia blanco y que pueda resistir altas temperaturas. La polimerasa que se utiliza ha sido aislada de la bacteria *Thermus aquaticus* de las aguas termales y se llamada Taq I.

Hay 3 fases distinguibles involucradas en el PCR dependientes de la temperatura que se repiten de 20 a 30 ciclos.

---

<sup>1</sup> Un cebador es una pequeña hebra de RNA la cual debe ser sintetizada en un templete de DNA antes de que la DNA polimerasa comience la elongación de una nueva hebra de DNA. ésta es posteriormente removida y el espacio se llena con DNA.

## The Polymerase Chain Reaction

Reaction mixture includes DNA sample: two single-stranded primers, each with a 20-base sequence identical to the 5' end of one strand of the target sequence; heat stable *Taq* polymerase; and deoxyribonucleoside triphosphates (dNTPs).

### Phase 1

Denature unamplified DNA at 95°C to form single-stranded templates.

### Phase 2

Anneal primers to template at about 60°C.

### Phase 3

Synthesize new strands at 72°C.

### Phases 1 and 2

Denature products of Cycle 1 and anneal primers to template strands.

### Phase 3

Synthesize new strands.

### Phases 1 and 2

Denature products of Cycle 2 and anneal primers to template strands.

### Phase 3

Synthesize new strands.

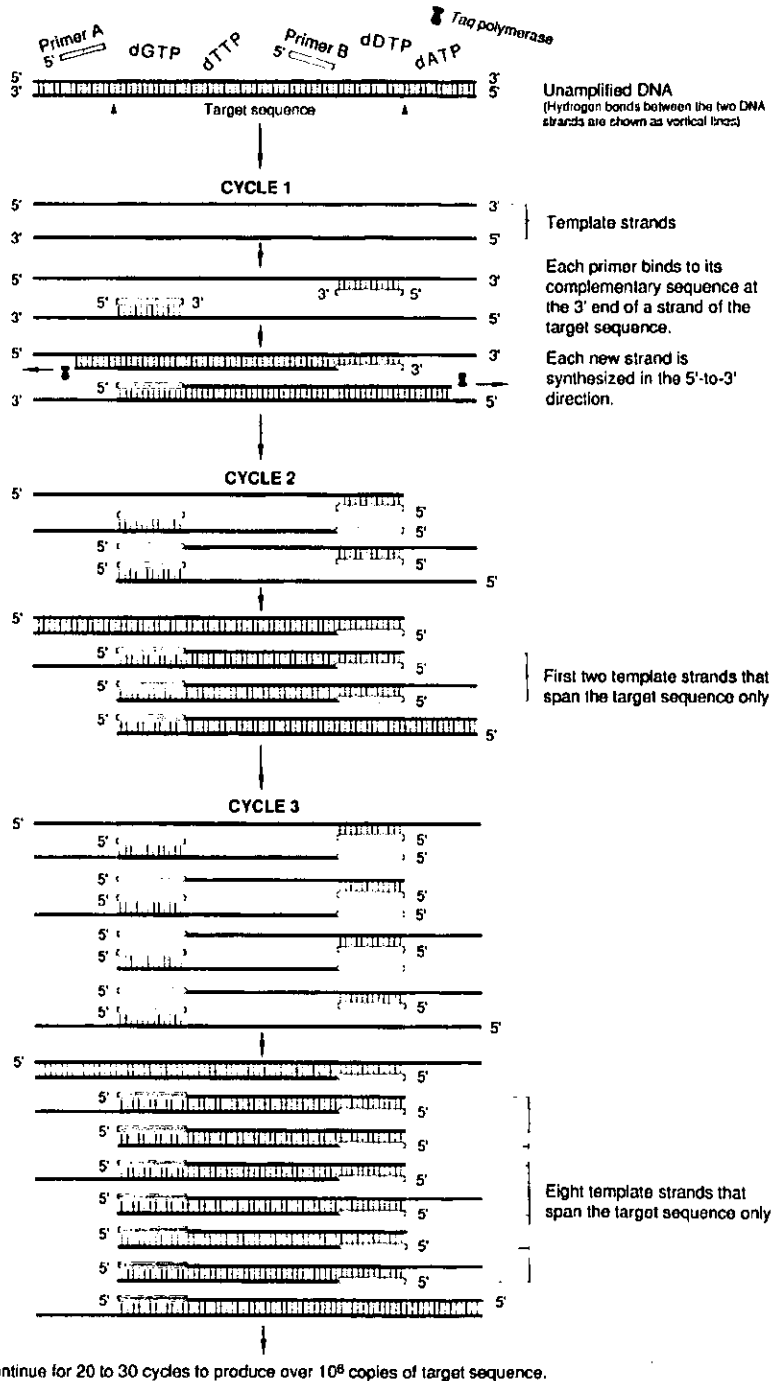


Figura 11 Fases de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR o Polymerase Chain Reaction). Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 129.

La primera fase involucra la desnaturalización de la doble hélice de DNA a 95°C, con el propósito de romper los enlaces de hidrógeno que mantienen juntas las dos hebras de DNA. El resultado por lógica es obtener una sola hebra de DNA que servirá de patrón para llevar a cabo la síntesis del DNA.

La segunda fase también llamada fase de apareamiento complementario contempla el enfriamiento de esta mezcla de reactivos a una temperatura de 55°C a 65°C dependiendo del  $T_m$  de cada cebador (secuencias iniciadoras) en particular. El  $T_m$  es la temperatura a la cual el cebador no se encuentra atado a su hebra complementaria. Generalmente la temperatura óptima que se contempla para cada par de primer es 5°C por debajo del  $T_m$ . A una temperatura óptima cada secuencia iniciadora se agarra o hibridiza respectivamente a su hebra de DNA complementaria en los extremos 3' de cada una de las hebras de DNA patrón.

La tercera fase, también llamada fase de extensión, involucra el calentamiento a 72°C para facilitar la síntesis o extensión de la hebra del cebador por la acción de la polimerasa de DNA. La polimerasa se pega en los extremos 3' de los cebadores catalizando la adición de nucleótidos a la hebra del cebador hasta que se termina el final de la hebra de DNA patrón o hasta que se pierde. La síntesis de la nueva hebra de DNA complementaria a la hebra patrón se lleva a cabo en la dirección 5' a 3'.

Durante el segundo ciclo de la reacción tenemos exactamente una duplicación de cada hebra de la secuencia blanco. De esta manera cada ciclo subsecuente dobla el número de hebras, después de un número de  $n$  ciclos, la reacción contendrá aproximadamente  $2^n$  copias de cada hebra de la secuencia blanco.

Varios avances importantes se han logrado gracias al uso del PCR en las investigaciones del genoma humano, entre estos se incluye: i) la purificación de un buen número de DNA polimerasas termoestables (incluyendo la clonación de algunos de los genes correspondientes) que permite los ciclos repetitivos de la síntesis de DNA y ocurren por un simple ciclo térmico, sin la necesidad de adicionar una enzima cada vez que se haga la etapa de la desnaturalización; ii) el desarrollo de métodos más eficientes y automáticos para la síntesis química de los oligonucleótidos iniciadores; y iii) la construcción de instrumentos perfeccionados que proporcionen ensayos eficientes de PCR que puedan ser sujetos a ciclos térmicos. Como resultado el PCR representa una técnica rutinaria utilizada virtualmente en todos los estudios genéticos, así como en un gran número de laboratorios clínicos. Además debido a su rapidez, su alta sensibilidad y su susceptibilidad a la automatización el PCR esta siendo usado para un amplio rango de tareas inherentes en el estudio del genoma humano y de otros organismos modelo.

## Sistemas de clonación del DNA

Los sistemas tradicionales de clonación del DNA se basan en células procariotas, generalmente en la bacteria *E. coli*. Durante los últimos años ha sido posible hacer millones de copias idénticas de segmentos de DNA, clonando (duplicando) cada segmento individualmente en una molécula de DNA recombinante en la bacteria *E. coli* (Figura 12). Por ejemplo:

**Plásmidos-** son moléculas de DNA extracromosomales que se pueden manipular genéticamente y pueden integrar pequeñas piezas de DNA exógeno (entre 10 Kb) (Figura 13).

**Cósmidos-** son una forma modificada de plásmidos que pueden acomodar segmentos de DNA de más de 40 a 45 Kb en tamaño (Figura 14).

**Bacteriófagos-** son virus que infectan bacterias y ciertos tipos como el fago lambda, puede ser capaces de transportar 25 Kb de DNA ajeno a su genoma.

Debido a su capacidad como intermediario de la cantidad de DNA clonado los cósmidos clonados (y en alguna extensión los bacteriófagos) han jugado un papel importante en el mapeo del genoma por muchos años, por ejemplo: las estrategias de utilización de cósmidos para el aislamiento y el mapeo de extensos trozos de cromosomas humanos han sido desarrollados e implementados para diferentes regiones en el genoma. Sin embargo, esos esfuerzos han resultado raramente en clones contiguos que cubran extensiones de más 100 a 200 Kb ( que representan una pequeña fracción de un cromosoma humano) no obstante los clones de cósmidos y bacteriófagos tienen un papel fundamental en el estudio del DNA humano y en el aislamiento de los genes de interés (Green *et al*, 1992).

### Cromosomas artificiales de levadura (YACs)

El sistema de clonación de YACs fue desarrollado en 1987 y ha permitido el aislamiento y el estudio de segmento de DNA que son significativamente más grandes que los que se clonaban en sistemas tradicionales basados en bacterias. En este caso, el hospedero es la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (una célula eucarionte) y el DNA clonado está contenido en un cromosoma lineal "artificial" (una molécula de DNA extracromosomal) (Figura 15). El DNA clonado contenido en los YACs tienen un rango de tamaño de menos de 100 Kb a mas de 1000 Kb, que son aproximadamente de 10 a 20 veces más grandes que la capacidad de los sistemas de clonación de bacterias.

Un número muy grande de genotecas (Conjunto de vectores que contienen todas las secuencias de DNA de otro organismo) de YACs considerable han sido construidas de DNA genómico humano y esos clones son usados para mapear varias regiones del genoma humano. Las genotecas de YACs también son construidas para usarlas en genomas de otros organismos como: el ratón (*Mus musculus*), el nématodo (*Caenorhabditis elegans*), la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*), la planta acuática (*Arabidopsis thaliana*) y muchas otras.



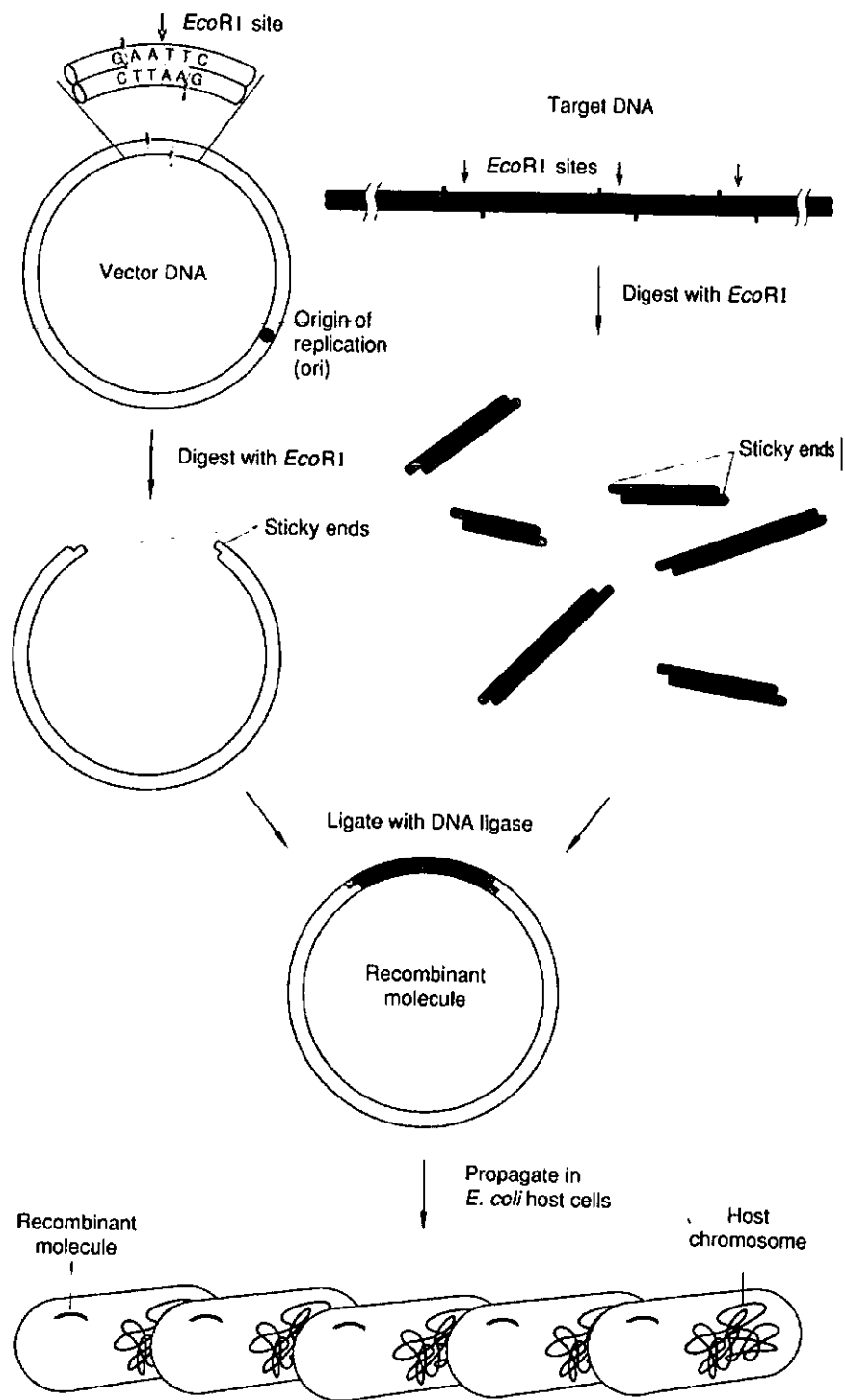


Figura 12 La figura ilustra la construcción y la propagación de moléculas recombinantes. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 222.

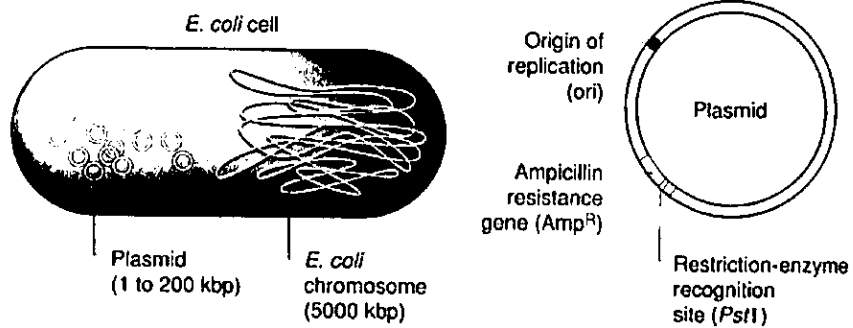


Figura 13 Ejemplo de un plásmido. Los plásmidos son pequeñas moléculas de DNA circulares en el citoplasma de *E. coli* y otras bacterias. Los plásmidos contienen un replicón, es decir, una secuencia de DNA que permite que la bacteria hospedera los replique. El replicón incluye un origen de replicación (ori). Muchos plásmidos contienen sitios dedicados a una gran variedad de endonucleasas de restricción, además de secuencias de DNA que codifican genes resistentes a diferentes antibióticos. Las cualidades naturales de los plásmidos los convirtieron en los primeros vectores usados en los sistemas de clonación. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 224.

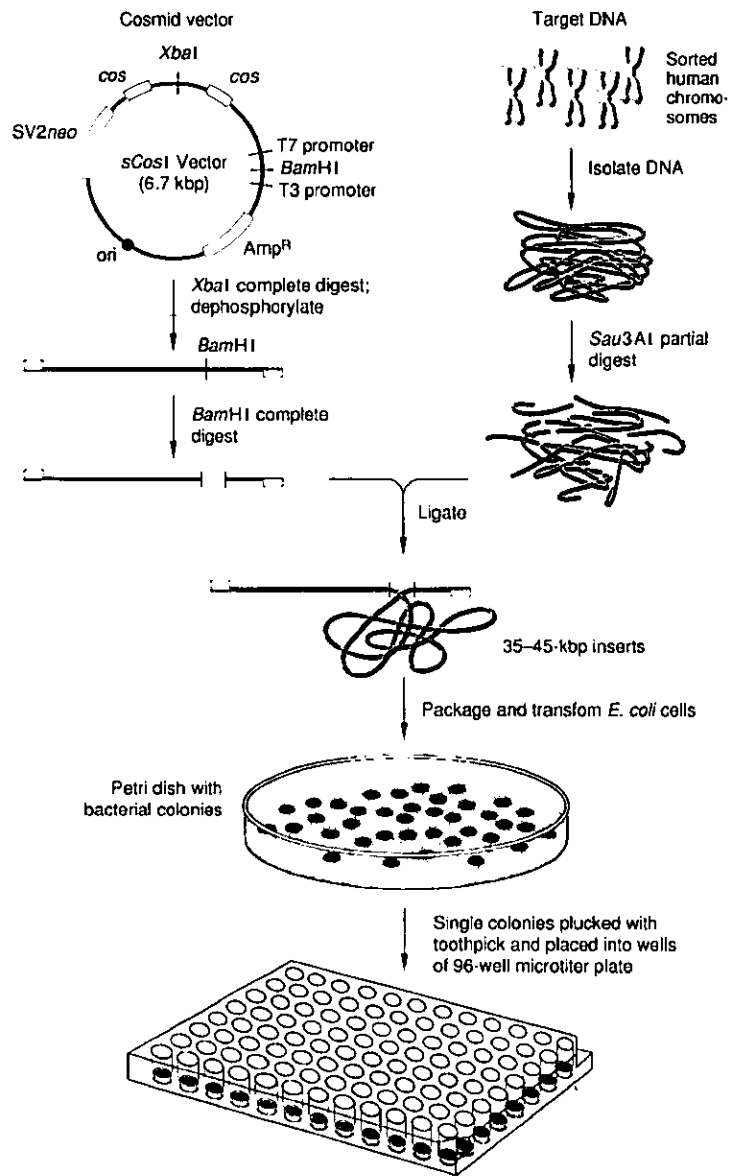


Figura 14 Clonación con cósmidos de DNA de cromosomas humanos seleccionados. El cósmido como vector de clonación contiene dos sitios cohesivos "cos" para reunir la molécula lineal recombinante después de la transfección. Además nótese que el vector contiene dos marcadores selectivos como la resistencia a la ampicilina y a la neomicina, sitios de restricción para endonucleasas, secuencias promotoras como T3 y T7 para selección y localizar la molécula recombinante deseada. El vector es cortado y linealizado con la enzima de restricción *Xba* I y *Bam*HI creando dos brazos de clonación. El DNA a clonar es semicortado con *Sau*3A1. Después los fragmentos entre 35 a 45 Kb de largo son unidos a los brazos del vector, así la molécula recombinante producida es empaquetada dentro de la cápside del fago. Las partículas de fagos infecciosos insertan la molécula recombinante dentro de cada una de las células de *E. coli*, donde la molécula reside como plásmido. Para prevenir el rápido crecimiento de las células de *E. coli* cada colonia es transportada por separado en un plato con múltiples pozos. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 240.

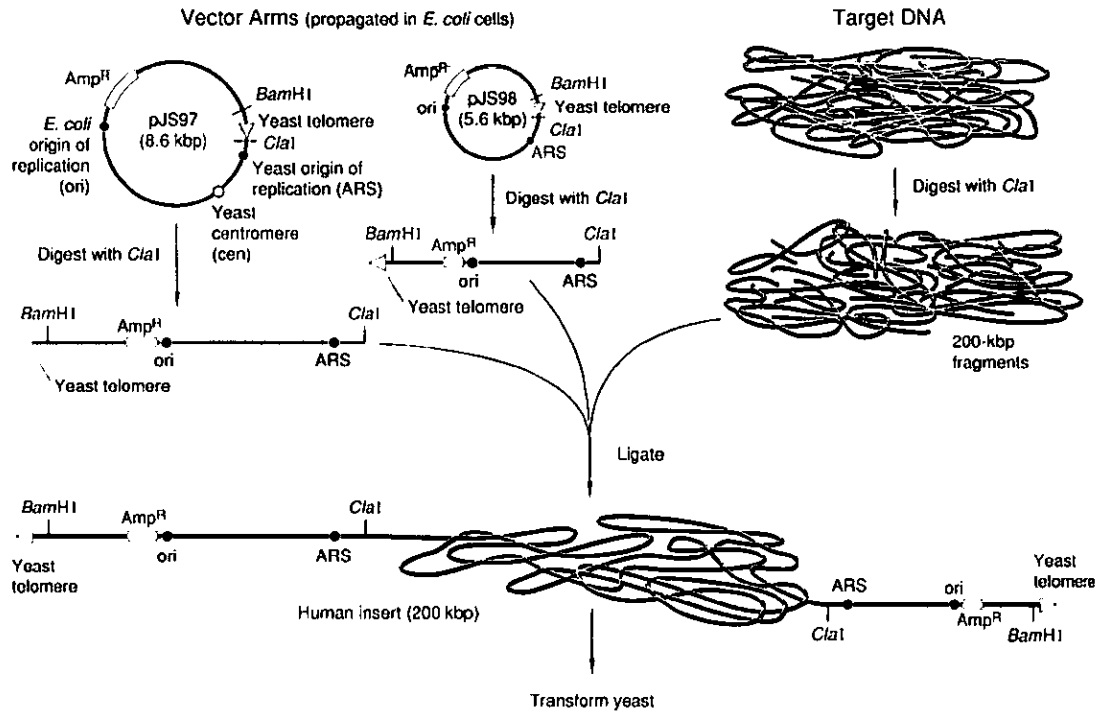


Figura 15 Ejemplo de un YAC (Cromosoma Artificial de Levadura) como vector en la clonación. Los dos brazos del YAC son manufacturados separadamente en *E. coli* como plásmidos pJS97 y pJS98. Cada uno contiene un gen resistente a la ampicilina, un replicón (*ori*) para propagarse como plásmido y un origen de replicación de la levadura (ARS), un telómero de levadura y varios sitios de anclaje para enzimas de restricción, incluyendo la enzima *Cla* I localizada en el extremo terminal del telómero. Únicamente pJS97 contiene un centrómero de levadura y un gen de supresión de pigmento que cambia el color de las colonias de las levaduras. Los plásmidos son linealizados y el DNA blanco es fragmentado con la enzima *Cla* I. Los brazos del vector producidos tendrán una secuencia de levadura telomérica en la región terminal y una cola de *Cla* I en el otro extremo. Los fragmentos de DNA humano blanco son unidos al vector mediante la enzima ligasa para formar un YAC que puede transformar las células de levadura. Los promotores para la polimerasa de RNA T7 están localizados cerca del sitio de anclaje de la enzima *Cla* I. Estas secuencias son usadas en la generación de sondas de RNA de los extremos del inserto. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 96.

La selección de genotecas de YACs para los fines de interés fueron inicialmente hechos usando enfoques tradicionales de hibridación de DNA-DNA con una sonda. Sin embargo, han sido desarrolladas estrategias para identificar los YACs entre genotecas complejas usando PCR y representan las formas más comunes para la selección de las genotecas de YACs. Gracias a varias características de clonaje de los YACs este sistema de clonación es susceptible de ser usado en el aislamiento y mapeo de grandes regiones de genoma humano. Primero, proporcionan una estrategia para obtener grandes piezas de DNA clonado, que simplifican los procesos de construcción de mapas de regiones extensas de cromosomas y el aislamiento de genes muy grandes en forma intacta, de numerosas regiones del genoma humano con relevancia médica, incluyendo el gen de la fibrosis quística en el cromosoma 7; el gen de la distrofia en el cromosoma X; el segmento de HLA en el cromosoma 6; el gen de la enfermedad de Huntington en el cromosoma 4 y muchas otras. Además, la clonación de YACs se ha estado usando para aislar y mapear los cromosomas humanos incluyendo en mayor proporción el cromosoma X y virtualmente los cromosomas Y y 21 (Los Alamos Science, 1992).

Una segunda característica importante de clonación de YACs, es la habilidad para usarse como hospedero de la levadura para la reconstrucción de grandes genes humanos por medio de la hibridación y recombinación de pequeños YACs sobrelapados.

Este procedimiento se ha venido utilizando para obtener YACs individuales que contienen todo el gen de la fibrosis quística de cerca de 250 Kb; del protogene BCL2 de 230 Kb y del gen de la distrofia muscular de Duchenne de 2.3 Mb. Finalmente como un eucarionte, la levadura parece proporcionar un medio más hospitalario para la replicación de algunos DNAs de otros eucariontes y además es capaz de clonar ciertos segmentos de DNA que fueron previamente inclonables en bacterias, por varias razones los sistemas de clonación con los YACs actualmente representan el sistema más utilizado para el aislamiento y mapeo de grandes regiones de cromosomas humanos.

La clonación con YACs, sin embargo, no está exenta de problemas. Una desventaja es la dificultad en la purificación de grandes cantidades de DNA de YACs. Por lo que es necesario la fragmentación de un YAC y su subclonación en vectores como plásmidos, bacteriófagos o clones de cósmidos conteniendo pequeños fragmentos de YACs, insertados previamente para realizar manipulaciones genéticas en la identificación genes y otros procedimientos rutinarios como la secuenciación. Otro problema serio con los YACs es la fuerte presencia de "quimeras de YACs" (segmentos de DNA de diferentes genes al azar en un sólo clon). Estas quimeras de YACs constituyen la mitad o más de los clones de muchas genotecas hechas de DNA de genoma humano.

### **Electroforesis en gel de campo pulsado**

Una herramienta importante que ha jugado un papel fundamental en el desarrollo de los YACs y otros grandes sistemas de clonación es una técnica que consigue la separación de grandes moléculas. Un enfoque convencional de la electroforesis en gel (típicamente geles de agarosa) con una resolución arriba de los 50 Kb en tamaño son incapaces de separar significativamente grandes fragmentos de DNA. Para superar esta

limitación ha sido desarrollado un método en el cual la dirección del campo eléctrico aplicado al DNA dentro de un gel de agarosa es periódicamente alternado.

Esta técnica es llamada electroforesis en gel campo de pulsado (Figura 16). puede separar fragmentos de DNA superiores a 10 Mb en tamaño. Numerosos refinamientos y modificaciones basados en el enfoque de electroforesis en gel de campo pulsado se han hecho construyendo un método de rutina sencillo. La electroforesis en gel de campo pulsado ha sido utilizado para estudiar el genoma de organismos tales como la levadura, para establecer mapas de restricción del ser humano utilizando enzimas de restricción de cortes raros, para caracterizar grandes inserciones en clones tales como YACs y para detectar ciertos tipos de mutaciones causadas por enfermedades genéticas humanas.

La electroforesis en gel standard no ordena fragmentos largos de DNA en forma adecuada, las hebras largas con cerca de 30 000 bases (30 kilobases) tienen tendencia a moverse con la misma velocidad. David Schwartz de la Universidad de Columbia, y Charles Cantor, también de Columbia, (actualmente en la Universidad de California), encontraron que si cambiaban abruptamente la dirección del campo eléctrico podían forzar a las moléculas a pausar y reorganizarse entre ellas antes de cambiar de dirección. El segundo campo eléctrico puede tomar cualquier ángulo deseado comparado con el primero, y la duración de cada pulsación puede ser de segundos o minutos. El resultado de la pausa en respuesta a un nuevo campo hace el truco. El tiempo que una molécula requiere para reorientarse varía con el tamaño, así la técnica puede separar moléculas por el tamaño cuando éstas son de el orden de mil bases de largo, más que aquellas del orden de 10 millones de bases de largo. Cantor y Schwartz nombraron esta técnica "Pulsed-field gel electrophoresis", cuando la anunciaron en 1984. Los últimos instrumentos son hexagonales y tienen 24 electrodos arreglados alrededor de ellos: los electrodos son controlados por computadora así que el campo es siempre uniforme y puede cambiar de dirección instantáneamente (Freeland, 1993. p. 74).

### **Hibridación *in situ***

La técnica comienza con un fragmento de DNA que contiene un gen o un pequeño pedazo de gen. Para la hibridación *in situ*, se necesita aumentar el DNA clonado con un marcador radioactivo. El resultado de este material genético marcado es llamado sonda. Los cromosomas son esparcidos en la célula humana de tal manera, que el DNA de estos cromosomas se abran y pueden formar pares de bases con secuencias complementarias de DNA. Se agrega entonces la sonda en los cromosomas; de esta manera la sonda formará híbridos con el DNA celular pero únicamente en los lugares donde la secuencia de bases se aparean. Así se consigue una autorradiografía de los cromosomas esparcidos, produciendo en una película una copia de los cromosomas con puntos negros donde la radioactividad se marca son los puntos donde los genes se localizan (Freeland, 1993 p. 71).

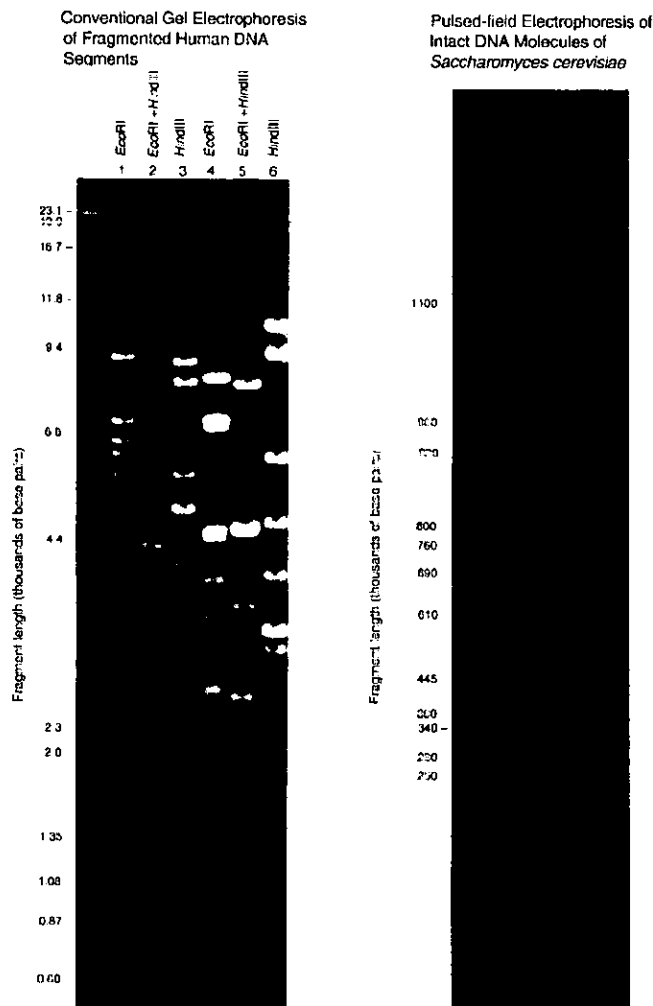


Figura 16 Diferencias entre una electroforesis en gel convencional de fragmentos de DNA humano segmentados y de una electroforesis de campo pulsado (Pulsed-field Electrophoresis) de moléculas de DNA intactas de *Saccharomyces cerevisiae*. En la electroforesis convencional los fragmentos generados fueron resultados de la digestión enzimática de las endonucleasas de restricción para crear fragmentos de tamaño manejable durante la migración de estos a través de la gelatina. Nótese que el tamaño de los fragmentos en una electroforesis convencional es de entre 500 pb a 23 kb. Con la electroforesis en gel de campo pulsado cada molécula intacta de DNA que compone el genoma de *Saccharomyces cerevisiae* es separada exitosamente. Con la electroforesis de campo pulsado, se pueden resolver fragmentos de DNA con tamaños de hasta 5 millones de pares de bases mediante el incremento de la duración de los pulsos. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 56.

## **Fluorescencia de Hibridación *in situ***

Un paso importante en la caracterización de segmentos clonados de DNA es la identificación de sitios aproximados en el genoma del cual es originado (por ejemplo su localización en un cromosoma en particular) la ruta más directa para obtener tal información incluye la hibridación de segmentos de DNA en preparaciones de DNA de cromosomas intactos de células en metafase; utilizando herramientas que sigan las características estructurales de los cromosomas condensados para ser preservados. Si la sonda del DNA está marcada apropiadamente, el examen microscópico de los cromosomas puede ser usada para identificar la posición o las posiciones de hibridación, siguiendo la tarea del DNA a una región subcrosomal particular. En esta área han ocurrido grandes avances en años recientes y éstos han incluido el uso de "etiquetas" fluorescentes para marcar las sondas de DNA y microscopía fluorescente para establecer la posición de la hibridación, una técnica conocida como fluorescencia de hibridación *in situ* (Figura 17)(Green *et al*, 1992).

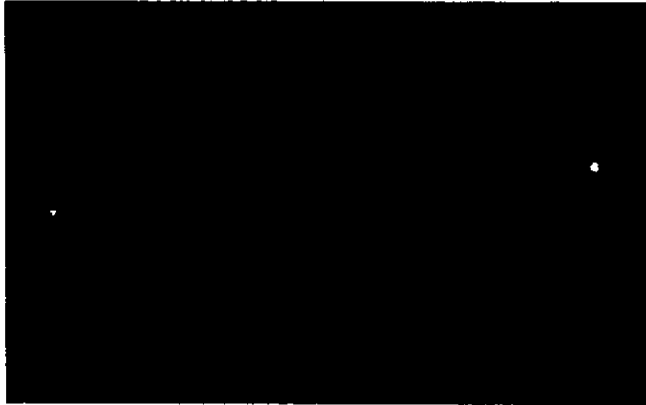
La fluorescencia de hibridación *in situ* (FISH) ha tenido grandes avances en la tecnología. En general el enfoque básico ha llegado a ser más eficiente y fidedigno haciéndolo fácil de implementar. La técnica para identificar segmentos de DNA estrechamente espaciados ha sido también mejorada; por ejemplo: el análisis standard de FISH con preparaciones de cromosomas en metafase pueden ser usadas para discriminar entre regiones separadas por 5-10 Mb. Sin embargo, con etiquetas fluorescentes de diferentes colores y el uso de células en interfase (con sus cromosomas altamente extendidos) más segmentos de DNA estrechamente relacionados, apartados únicamente unos 100Kb pueden ser resueltos en algunos casos. Ya que el análisis de FISH tiene significado para establecer la posición de un segmento de DNA clonado, relativo al cromosoma fuente, esta técnica está jugando un papel importante en el mapeo del genoma.

## **Microdissección de cromosomas**

Una estrategia clave para aislar segmentos de DNA de regiones citogenéticamente definidas de un genoma, es la microdissección de cromosomas. En este método las regiones de un cromosoma citogenéticamente distintas son microscópicamente extirpadas y aisladas del DNA genómico remanente. La microdissección fue inicialmente aplicada a cromosomas politénicos de la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*. La aplicación del PCR ha marcado el poder de este enfoque siguiendo su uso con DNA humano. Por ejemplo, el DNA humano puede ser microdissectado de una sola banda cromosómica humana apropiadamente procesada y amplificada por medio del PCR. El producto de DNA amplificado puede entonces ser subclonado, y estos clones individuales pueden ser utilizados como sondas de hibridación o como templates (DNA patrón) de secuencias de DNA (ver generación de STSs abajo). Las estrategias de microdissección están incrementando su uso en los esfuerzos para aislar segmentos "blanco" del genoma humano, por ejemplo regiones que están pobremente representadas con marcadores existentes (Green *et al*, 1992).



### **In-Situ Hybridization on Human Chromosome 21**



**Four DNA probes labeled with a fluorescent dye produce positive hybridization signals at four locations along chromosome 21. Because metaphase chromosomes are made up of two nearly identical sister chromatids, each probe produces a pair of signals.**

Figura 17 La figura ilustra la Hibridación *in situ* del cromosoma humano 21, utilizando cuatro diferentes sondas de DNA marcadas con moléculas fluorescentes. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 112.

## **Células híbridas de línea somática**

Para mayor facilidad en el manejo de los cromosomas individuales o regiones particulares se han creado varias líneas de células somáticas híbridas. Son células que contienen el genoma completo de especies hospedadoras (generalmente se utilizan roedores como el hámster) con alguna cantidad de DNA de otras especies en este caso de DNA humano. Esta técnica ha sido de gran utilidad en la construcción de mapas de híbridos de DNA radiado (ver mapa de híbridos de DNA radiado) (Green *et al.* 1992).

## **STSs (Secuencias cortas de DNA únicas en el genoma)**

Recientemente un marcador llamado STS (sequence tagged site) juega un papel sobresaliente en el ensamblaje de los mapas físicos de DNA humano (Figura 18). Los STS están definidos como pequeñas hebras de ( 60-1000 pb de una secuencia única de DNA que puede ser específicamente detectada por un ensayo de PCR).

En esencia, los STSs son los marcadores físicos de DNA y el PCR es el método experimental usado para detectarlos. Los mapas de STSs simplemente representan el orden relativo y el espacio dentro de una región de DNA.

Los STSs han servido de lenguaje también de los mapas de enlace o genéticos pues se han generado STSs para cada marcador de DNA polimórfico mediante la secuenciación de éste. La meta de los primeros 5 años del PGH con respecto a los mapas de enlace es lograr tener marcadores a distancias de 2 o 5 centimorgans esparcidos a lo largo del genoma. Por lo tanto se necesitan cerca de 600 STSs polimórficos. Otra ventaja que tienen de los STSs es que no necesitan ser almacenados como los clones, sólo se necesita su secuencia para poder duplicarlos. La información sobre los STSs puede ser almacenada en una base de datos como GenBank con información sobre los primers que se deben usarse para amplificar un STS específico. Además se ha incluido información acerca de las condiciones de la reacción en el PCR. Para aquellos científicos que se han convertido en cazadores de genes, es una herramienta muy valiosa. Con ayuda del PCR se pueden generar muchas copias de STSs que pueden ser usados para monitorear (screening libraries) genotecas de clones no identificados para la identificación de clones que contengan un marcador en particular.

Las etapas que se siguen para la elaboración de un STS como marcador es la siguiente:

- 1) Se puede empezar por crear una genoteca de un cromosoma en particular.
- 2) Se secuencian los extremos terminales del fragmento insertado en el cósmido. Sólo se necesitan de 200 a 400 pares de bases para elaborar un STS.
- 3) Con la ayuda de programas computacionales a base de algoritmos complejos se identifican regiones con una alta probabilidad de ser únicas.
- 4) De esta secuencia posiblemente única, se diseñan pares de cebadores con una separación entre ellos de entre 100 a 300 pares de bases. En el diseño de secuencias iniciadoras se debe considerar la presencia de Gs and Cs en un porcentaje entre 45% a 55%. Otro parámetro importante es la temperatura de fusión (melting point) de los dos cebadores que no difieran menos de 5° C.

### Example of an STS

**Rough Sequence—347 Bases** (lower case letters indicate uncertainty in the base call)

				<b>Primer A</b>	
9	5'	GAATGAGTGA	TCAGGAGGTC	CAACTCC	AAAGGGTGG
15		GATTAAGAT	CACACTGGC	GATGCTPA	CTCTCTAAG
20		TCCTATTCC	AAATGAGAT	ACAACCTAP	AGAACATTCC
151		ACGATACTA	TACCTGAGC	AGATCCAAC	TATATAGGGA
201		CACCTGCTA	CTTACTTGAT	CATCCCTCA	CTTATGGGA
251		CTCTGCTAC	ATCTGCTCA	CATCTACTA	CTTATCTCAG
301		CTCTGCTAC	CACCTGCTC	TACCTGCTC	TGAACTT-3'
		3' CTCTGCTC	GCTGCTAC	A-5'	<b>Primer B</b>

				<b>Melting Temperature</b>						
<b>Primer A</b>	5'	CTE	TCC	ATC	AAC	ATC	ACT	CAG	3'	<b>69.4°C</b>
<b>Primer B</b>	5'	TAC	CCA	GGC	CTC	CTC	AAG	ATC	3'	<b>68.7°C</b>

The STS developed from the rough sequence shown above is 171 bases long. It starts at base 162 and runs through base 332. Primer A is 21 bases long and lies on the sequenced strand. Primer B is also 21 bases long and is complementary to the shaded sequence toward the 3' end of the sequenced strand. Note that the melting temperatures of the two primers are almost equal. A computer algorithm was used to pick out the two primer sequences and to calculate their melting temperatures.

Figura 18 Ejemplo de un STS (Sequence-Tagged Site) o secuencias cortas únicas en el genoma humano. Los STSs son los marcadores genéticos utilizados en la construcción de los mapas físicos. Tomada de Los Alamos Science, 1992, p. 133.

5) Se sintetizan los cebadores y se usa el PCR usando DNA genómico aislado de células humanas. Los productos de la amplificación de DNA con el PCR se corren en una electroforesis en agarosa para evaluar la especificidad de la reacción.

6) Si se encuentra un STS, el resultado será observar en la electroforesis en gel una sola banda que corresponda al tamaño esperado de la región blanco.

Además de producir regiones únicas en el genoma que pueden ser usadas como marcadores para la construcción de mapas físicos, los STS- también pueden servir de marcadores para la construcción de mapas de enlace genéticos. Con los STSs se pueden desarrollar regiones únicas a lo largo del genoma humano que varían en tamaño de un individuo a otro. Por lo tanto, un STS con una región variable es por definición un marcador polimórfico de DNA, el cual en combinación con otros marcadores de DNA y siguiendo el patrón hereditario a través de las familias se puede localizar el gen en el mapa genético o de enlace (Los Alamos Science, 1992, p.133-134).